

Pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) tatt på Vestlandet.

- Hvilke parasitter og infeksjoner bærer de på?



Marte Andrea Fjær

Masteroppgave i fiskehelse



Universitetet i Bergen
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet
Institutt for biologi
Juni 2019

Pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) tatt på Vestlandet.

- Hvilke parasitter og infeksjoner bærer de på?

Marte Andrea Fjær

Masteroppgave i fiskehelse



Universitetet i Bergen
Det matematisk-naturvitenskapelige fakultet
Institutt for biologi

Juni 2019

Forsidebilde: Kjønnsmoden hann-pukkellaks tatt i Etne den 9/8-2017. **Foto:** Per Tommy Fjeldheim.
Parasitter fra venstre: *Diphyllobothrium* sp, *Scolex pleuronectis* B, *Derogenes varicus*, *Salmincola salmoneus*,
Scolex pleuronectis B, *Scolex pleuronectis* A & *Hysterothylacium aduncum*

© Marte Andrea Fjær

2019

Pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*) tatt på Vestlandet - Hvilke parasitter og infeksjoner bærer de på?

Marte Andrea Fjær

<https://bora.uib.no/>

IV

Sammendrag

Sommeren 2017 ble det rapportert om store forekomster av pukkellaks over hele norskekysten. De ble observert over 230 elver, fordelt fra nord til sør i Norge. Den svartelistede pukkellaksen skapte raskt overskrifter med at en uønsket og potensiell smittebærer innvandret de norske elvene.

Målsettingen med denne studien var å kartlegge parasitter (virus og eukaryote parasitter) hos voksne oppvandrede pukkellaks fra Hordaland. Det ble gjennomført disseksjoner og parasittundersøkelser samt tatt analyserprøver for å påvise visse bakterie-, virus- og parasittagens molekylært. Totalt ble 80 pukkellaks tatt fra tre elver i Hordaland (Etne, Guddal, Ekso) og undersøkt for mikro- og makroparasitter. Hjerne, nyre og gjelle prøver ble analysert for virale-, bakterielle og protist parasittinfeksjoner ved å bruke q-PCR. Pseudobrankie- og tarmprøver ble analyser for *Parvicapsula* spp. og *Spiroucleus* spp. infeksjoner ved PCR. Myxosporidien *Parvicapsula pseudobranchicola* ble funnet i pseudobrankieprøver, lav prevalens (13%) og ingen sporer ble funnet ved mikroskopering av fargede pseudobrankie preparat. *Spiroucleus* spp. ble ikke påvist. I gjelleprøvene var mikrosporidien *Desmozoon lepeophtheirii*, og flagellater av slekten *Ichthybodo* vanlige (trolig *I. samlonis*). Virale infeksjoner (IPNV, ISAV, PMCV, SAV, IHNV, PRV-1) ble ikke påvist.

I det totale prøvematerialet ble det tilsammen funnet 16 makroparasittarter, derav 2 ferskvannsparasitter og 14 marineparasitter. Noen larver av helminter ble identifisert ved bruk av LSU rDNA sekvenser. Parasittene som representerer parasittsamfunnet hos pukkellaks tatt i Hordaland var følgende; Copepodene *Lepeoptheirus salmonis* og *Salmincola salmoneus*, nematodene *Hysterothylacium aduncum* og *Anisakis simplex*, cestodene *Clistobothrium* sp. og *Phyllobothrium* sp. (*Scolex pleuronectis* A og B), *Eubothrium* sp. cf. *crassum*, *Diphyllobothrium* sp., *Scolex bothriosimplex* og trematodene *Derogenes varicus*, *Lecithaster gibbosus*, *Hemiurus luehei*, *Hemiurus communis*, *Brachyphallus crenatus* og metacercarie larvene *Cryptocotyle lingua* og *Apatemon gracilis*.

Bortsett fra en parasitt som trolig smitter fisken på vei inn i fjorden (*C. lingua*), synes makroparasittforekomsten i pukkellaksen fra de tre elvene å være lik. Kjønn og størrelse hadde svært lite betydning på parasittmengden, men ankomsttid til elven kunne ha betydning. Parasittfaunaen var forholdsvis lik det som har blitt funnet tidligere i Russiske elver, bortsett fra nesten fravær av arten *B. crenatus*.

Parasittsamfunnene er også svært lik hos atlantisk laks. Trolig foregår mye av veksten i beiteområder i åpent hav, hvor fisken får i seg lite parasitter. Dermed kan det meste av parasittene stamme fra oppholdet i estuarier som ungfisk, supplert med nyinfeksjoner fra vandringen mot kysten og elvene.

Det ble ikke påvist virale infeksjoner, eller andre patogener som kan representere en trussel i oppdrett av atlantisk laks. Minst $\frac{1}{4}$ av fiskene var bærere av den zoonotiske parasitten *Anisakis simplex*.

Forord

Masteroppgaven er skrevet som en avslutning for profesjonsstudiet i fiskehelse våren 2019. Arbeidet er utført ved det matematisk-naturvitenskapelige fakultet (Institutt for biologi) ved Universitetet i Bergen (UIB) i samarbeid med Havforskningsinstituttet (HI).

Takk til følgende personer for tilgang på pukkellaks:

Øystein Skaala (Prosjektleder), **Per Tommy Fjeldheim** (Daglig leder for drift), **Kaja Andersen**, **Valdas Gudavicius**, **Rimas Petrauskas**, **Emma Elisabeth Enhuus** og **Ingrid Otnes** ved Havforskningsinstituttet for pukkellaks tatt i Etneelva 2017.

Øystein Skaala (Prosjektleder), **Britt Iren Østebø** og **Bjarte Naterstad** ved Havforskningsinstituttet for pukkellaks tatt i Guddalselva 2017.

Trond Einar Isaksen ved Norce (da.Uni Research miljø) for pukkellaks som hadde blitt tatt opp i Ekso/Osterfjorden i 2017.

Jeg ønsker å rekke en stor takk til min hovedveileder **Egil Karlsbakk** (Universitetet i Bergen). Tusen takk for uvurderelig hjelp og oppfølging. I tillegg til den faglige hjelpen, setter jeg pris på alle hyggelige stunder med masse gode historier og kunnskap. Takk Egil, for at du alltid har vært så hjelpsom og imøtekommende. Medveileder **Abdullah S. Madhun** (Havforskningsinstituttet) takkes for analysering og resultatdata av virusagens og gjelleparasitter, **Lindsey Moore** (Universitetet i Bergen) for opplæring og rettleiding ved gjøremål på laboratoriet og korrekturlesing.

Helt til slutt ønsker jeg å takke min samboer Vegard og min familie for å ha støttet meg og gitt meg oppmuntring gjennom alle år med studier. Mine medstudenter takkes for en fin studietid i Bergen.

Bergen, juni 2019

Marte Andrea Fjær



Innholdsfortegnelse

1	Introduksjon	1
1.1	Pukkellaks.....	1
1.2	Målsetting	8
2	Materiale og metoder	9
2.1	Anskaffelse av pukkellaks	9
2.2	Elvelokaliteter.....	11
2.1	Disseksjon og parasittundersøkelse	13
2.1	Prøvemateriale	15
2.2	Farging og mikroskopiering av preparat	16
2.3	DNA-ekstraksjon	17
2.4	Polymerase kjedereaksjon	18
2.5	Gel elektroforese og sekvensering.....	22
2.5	Tallbehandling og statistikk.....	24
3	Resultat.....	25
3.1	Makroparasitter.....	25
3.2	Mikroparasitter	44
3.3	Virus	44
3.4	Gjelleagens	45
3.4	Sammenligninger av elver	46
4	Diskusjon.....	51
4.1	Makroparasitter.....	52
4.2	Mikroparasitter	64
4.3	Virus	66
4.4	Gjelleagens	68
4.5	Sammenligning av elver	69
4.5	Sammenligning med atlantisk laks og tidligere studier av pukkellaks.....	73
4.7	Parasitter som biologiske indikatorer	77
5	Konklusjon	79
	Litteraturliste	80

Ordforklaringer

Abundans	Totalantall av en spesiell parasittart i en enkelvert, uansett om den er infisert eller ikke (Bush et al. 1997)
Arktoboreal	I boreale og arktiske områder
Bentisk	Levsted nær bunnen
Boreal	Nordlig, i. e. lever i nordlige områder
DNTPs	Byggeklosser i DNA. En samlebetegnelse på de fire deoksynukleotidene.
Ektoparasitt	Lever på utsiden av verten; hud, finner og gjeller
Enzootisk	Hjemmehørende
Endoparasitt	Lever inne i verten.
Euryhalin	En organisme som tilpasser seg i bredt spekter av saltholdigheter
Cercarier	Frittlevende larvestadium av trematoder
Plerocercaroid	Larvestadium hos bendelorm
Intensitet	Antall av en parasittart i en infisert vert (Bush et al. 1997)
Juvenile	Umoden organisme
Lokalitet	Geografisk område
Luminal	Lever fritt inne i hulrommet i mage og tarm
Makroparasitter	Parasitter som ikke kan reproducere på eller i verten. Som regel store (e.g lakselus)
Mellomvert	Ekstra vert i livssyklusen, hvor umodne parasittstadier lever
Metaercarier	Innekapslet larvestadium av trematoder, i andre mellomvert, vanligvis det infektive stadiet.
Mikroparasitter	Små og tallrike, formerer seg på eller i verten (e.g virus, bakterier, protozoer)
Site	Parasittens levested i verten
Sluttvert	Verten hvor parasitten modnes og gjennomfører seksuell formering
Pelagisk	Lever fritt i vannmassene
Prevalens	Andel av en parasittart i en infisert vert (%) (Bush et al. 1997)
Intensitet	Antall av en parasittart i en infisert vert (Bush et al. 1997)
Viscera	Innvoller
0-gruppe	Fiskeindivider under 1 år

Forkortelser

Ab	Abundanse
Bp	Basepar
FET	Fisher`s Eksakte Test
HI	Havforskningsinstituttet
KT	Kontigenstabell
Int.	Intensitet
KW	Kruskal-Wallis test
LSU	Ribosomets store underenhet (Large Sub-Unit). Her brukt om rRNA genet (LSU rDNA). Også referert til som 28S rDNA hos dyr
Lum	Luminal
L3	Larvestadium 3 (nematoda)
M	Metacercarie
MW	Mann-Whitney test
<i>n</i>	Antall
P (liten)	Signifikanssannsynlighet eller p-verdi
P (Stor)	Prevalens (%)
Pl	Plerocercoid
q-PCR	Kvantitativ PCR (quantitative, q) PCR, kort for «sanntids reverse-transcriptase PCR»
<i>r_s</i>	Sperman rang korrelasjons-koeffisient.
rDNA	Gen for ribosomalt RNA
SD	Standardavvik. (eng. Standard deviation)
SSU	Ribosomets lille underenhet (Small Sub-Unit). Her brukt om rRNA genet (SSU rDNA), også kalt 18S hos dyr
Tot	Total

1 Introduksjon

1.1 Pukkellaks

Pukkellaks (*Oncorhynchus gorbuscha*, (Walbaum 1792)) er den minste, men mest tallrike av stillehavslaksene i slekten *Oncorhynchus*. Den har sitt naturlige utbredelsesområde i de nordlige delene av Stillehavet, der arten har gytebestander både på vest- og østsiden (Gjelland & Sandlund 2012, Niemelä et al. 2016). Pukkellaksen er en anadrom art med en 2 årlig livssyklus, som er den mest spesialiserte livssyklusen hos slekten. Yngelen av pukkellaks vandrer forholdsvis raskt opp fra grusen og ut i havet, allerede påfølgende vår som den klekkes. Pukkellaksen bruker mesteparten av sitt liv i havet, hvor den er på næringsvandring og vokser godt før den vender tilbake til opphavs-elva 1,5 år senere for å gyte og dø (Heard 1991). Kjønnsmodne pukkellaks i de naturlige ubredelsesområdet returnerer som oftest tilbake til sin opphavs-elv, men trolig er innslaget av feilvandring relativt høyt, da yngelen tilbringer kort tid i opphavs-elva og har derfor begrenset imprinting (Heard 1991). Dette er særlig klart fra nye bestanders utbredelse, spredning og etableringsevne.

Pukkellaksen vokser hurtig, men oppnår allikevel ikke den størrelsen som en voksen av de andre laksefiskene kan ha. Dette på grunn av sitt helt unike livsløpet som er begrenset til 2 år. En voksen returnerende pukkellaks har vanligvis en lengde på 40-55 cm (Bjerknes 1977, Heard 1991) og gjennomsnittsvekt fra 1,0-2,5 kg (Heard 1991, Niemelä et al. 2016).

Pukkellaksens karakteristiske generasjonstid på 2 år har medført at arten har klart å etablere reprodutiv adskilte bestander i samme elv, som gyter annet hvert år. Disse refereres til som partall- og oddetallsbestander (Heard 1991, Mæstad 2009). For eksempel vil avkom som ble klekt i 2017 returnere til elva for å gyte i 2019.

Pukkellaksen har blitt introdusert etter flere utsettinger ved Barentshavet og Kvitsjøen, og derfra spredte den seg først til nordnorske elver. Den første overføringen av stillehavslaks startet allerede i perioden 1933-1939. Denne introduksjonen involverte både ketalaks (*Oncorhynchus keta*) og pukkellaks, som ble satt ut i elver omkring Kvitsjøen og Kola-halvøya (Russland) (Rasmussen 1961, Niemelä et al. 2016). Forsøket lyktes ikke, da det ikke ble gjenfangst av gytefisk (Bjerknes, 1977) og forsøkene ble avsluttet (Niemelä et al. 2016).

Utsettingene ble gjennomptatt, og i perioden 1956 til 1980 ble det benyttet rogn med opphav primært fra Sakhalin-halvøya i Stillehavet og noe fra nordlige elver i Kamchatka (Niemelä et al. 2016). Disse overføringene ble ikke så vellykket som ønsket, da arten ikke klarte å etablere selvproduserende bestander. Årsaken var trolig sen gytetid hos denne bestanden som medførte lav overlevelse i elvene ved Kolahalvøya (Niemelä et al. 2016). Utsettingene ga ikke resultat før i 1959, da de i stedet for å sette ut nyklekt larver, brukte larver. Larvene ble da holdt tilbake i settefiskdammer til de startet næringsopptaket (Niemelä et al. 2016). Det var denne partallsbestanden i 1958 som trolig ga de første observasjonene av arten langs Norskekysten høsten 1960 (Rasmussen 1961). Det ble observert pukkellaks i mer enn 40 elver og en del gytefisk ble sett i enkelte elver i Nord-Norge (Niemelä et al. 2016). I 1985 til 2001 ble det forsøkt med utsett av rogn fra en bestand lengre nord i Stillehavet, fra elva Ola ved Okhotsk havet. Den siste transplanteringen av pukkellaks ble avsluttet i 2001. Derfor har pukkellakser som har blitt tatt de senere år et opphav fra etablerte selvreproduserende bestander med opphav i Ola – oddetallsbestanden, lyktes i å etablert seg i flere elver ved Kvitsjøen, og deretter andre steder (Niemelä et al. 2016). Det er observert bestander i Finnmark med oddetallsår-gyting (Gjelland & Sandlund 2012).

Gyteklaare pukkellaks migrerer til elvene i tidsrommet juni - september (Bjerknes 1977, Heard 1991, Sandlund et al. 2018) etter å ha spist og vokst 1 ½ år i beiteområder i åpent hav (Niemelä et al. 2016). Gytingen starter etter et kortvarig opphold i elva, fra august til oktober. (Scott et al. 1986., Ingebrigtsen 1975). Pukkellaksen gyter vanligvis nederst i elva ved elvemunningen, til dels i brakkvann (Heard 1991), men enkelte individer har vist å svømme lengre opp i elva (Rasmussen 1961, Per T. Fjeldheim pers.komm). Etter endt gyting dør begge foreldrene, men hunnen kan vokte over de befruktete rognene i opptil 3 uker før hun dør, da spesielt ovenfor andre hunner. (Ingebrigtsen 1975, Heard 1991).

Pukkellakslarvene klekkes i tidsrommet desember – februar (Scott et al. 1989) og har da en lengde på nærmere 2 cm og bærer en plommesekk som de ernærer seg av (Niemelä et al. 2016). Klekketiden hos yngelen kan variere i forhold til temperatur i elva, ved med høyere temperatur vil klekkinga skje raskere (Rasmussen 1961). Yngelen vil stige opp av grusen når den har brukt opp plommesekken, og vandre ut i sjøen allerede den samme våren som den blir klekt. Smoltifiseringen starter alt når yngelen kommer opp fra grusen. Fisken undergår da morfologiske forandringer ved å få en mørkfarge på rygg, sølvblank på sidene og en hvit underside, og uten parrmerker (Heard 1991).

De fysiologiske tilpassningene gir evne til å til å leve i sjøvann, og de forlater raskt mindre elver, men i større elver kan de beite i flere uker før utvandringen skjer. Migrasjonen vekk fra selve elveosen kan skje raskt, men deretter beiter stimer av yngle gjerne i estuariet på grunt vann en tid, gjerne opptil flere uker etter utvandring fra elva (Mo & Poppe 2018). Føden består da av copepoder og andre mindre krepsdyr, inklusivt amfipoder, og gjerne insekter. Etter det korte oppholdet i estuariet vandrer så ungfisken ut i havet. De er da i snitt gjerne 5-6,5 cm lange (Heard 1991). Pukkellaksen går da gjerne fra å leve bentisk på noen cm dypt vann til pelagisk i det åpne hav, hvor hovedsakelig dietten består små copepoder, annet zooplankton og småfisk (Rasmussen 1960, Ingebrigtsen 1975., Niemelä et al. 2016,). Små blekksprut og larver av skalldyr er også iblant funnet som en viktig føde i Stillehavet (Rasmussen 1961).

Morfologien til Pukkellaks er karakteristisk, spesielt ved de morfologiske forandringene under kjønnsmodning (fig.1). Begge kjønn har samme fasong og sølvdrakt med hvit underside under sitt vekstopp hold i havet, men ved kjønnsmodning får de en grønnlig-gytedrakt med rosaskjær langs med sidene. Pukkellaksen har fått sitt navn fra den pukkelen som utvikles på fremre del av ryggen hos hanner under kjønnsmodning. Hodet og tennene til hannen blir markant større og forlengede kjever som sammen utgjør kroker (fig.2). Under kjønnsmodningen hos hunnene er det lite morfologiske forandringer, annet en fargeforandringer (Heard 1991). Pukkellaksen har tverrstilte ovale flekker på rygg, sider og halefinne, disse merkene gjør at pukkellaksen er lettere å gjenkjenne (fig.3). Under kjønnsmodningen får begge kjønn et tykkere hudlag, absorpsjon av skjell og en tilbakedannelse av fordøyelsessystemet (Heard 1991)



Fig 1. Pukkellaks tatt i Etnefella den 24 juli 2017. Det øvre bildet viser en kjønnsmoden hann-fisk med karakteristisk morfologi og det nedre en hunn-fisk med delvis gytedrakt. Foto: Ingrid Otnes.



Fig 2. Kjønnsmoden hann-fisk fra Etne (24.august) med markant større tenner i over- og underkjeve, som utgjør kroker.



Fig 3. De karakteristiske flekkene hos pukkellaks.

Pukkellaks har forekommet i varierende mengder i norske vassdrag over lengre tid, da spesielt i Finnmark (Grefsrud et al. 2018). I 2017 ble det meldt om en enorm pukkellaksinvasjon, naturlig nok mest i Finnmark men også langs hele norske kysten, fra nord til sør i landet. Norsk institutt for naturforskning (NINA) fikk nærmere 6400 meldinger om fangst og 5000 meldinger om observasjon av pukkellaksen fra over 233 elver i Norge i løpet av 2017. I tillegg ble det rapportert inn observasjon om vellykket klekking av pukkellaksyngel ved utgangen desember. Forskere hos NINA tror at det store antallet man fikk se i 2017 vil påvirke andre fiskesarter, men det er per dags dato lite kunnskap på dette området. I Artsdatabankens svarteliste over fremmede arter er pukkellaksen listet opp under kategorien «høy risiko». Med fremmed art vil det si at pukkellaksen har blitt introdusert utenfor sitt naturlige utbredelsesområde og er dermed en art som ikke ønskes etablert i Norge. (NINA 2017). Det at arten er uønsket betyr at den kan ha potensiale for negative innvirkninger på naturen og ovenfor våre stedegne fisk. Det er svært vanskelig å kunne forutse hvilke problemer nye arter kan føre med seg, derfor er pukkellaksen svartelistet og ikke ønsket i den norske fauna.

Gytetidene til den atlantiske laksen (*Salmo salar*), sjøørret (*Salmo trutta*) og pukkellaksen overlapper lite, selv om de gyter i samme elva. I norske elver gyter pukkellaksen i slutten av august og starten av september (Gjelland & Sandlund 2012., Mo et al 2018), og dør før den atlantiske laksen starter med sin gyting fra starten av oktober (Niemelä et al. 2016). Siden voksen pukkellaks ikke tar til seg føde i ferskvann, kan den ikke regnes som en konkurrent i forhold til næring, eller som predatorer på ungfisk hos de stedegne artene (Gjelland & Sandlund 2012.). Da pukkellaksynglene vandrer ut i sjøen forholdsvis kort tid etter klekking om våren (se over), er det lite trolig at de konkurrerer med laks- og sjøørretparr om maten i elva. Det er lite kunnskap om pukkellaksens innvirkning på våre stedegne laksefisker. I sin vandring fra og til elva er det stor sannsynlighet at den vil passere oppdrettsanlegg, og en mulighet er at de eksponeres for smitte og blir infisert. I så fall, kan de som smittebærere kunne spre agens til både vill- og oppdrettet laksefisk.

Pukkellaksyngelen kan også fange opp smitte i elvene, som de kan spre til oppdrettsanlegg ved utvandringen. Det er funnet voksen pukkellaks i norske laksemerder, som må ha kommet inn som ungfisk (upubl.)

Den største faren forbundet med sykdommer og parasitter er at pukkellaksen kan være mere resistent mot enkelte agens enn de hjemmehørende laksefiskene (e.g. Jones et al. 2006, 2008), og dermed effektivt spre disse og ha et konkurransefortrinn i naturen.

De store mengdene gyttende laks, som etter hvert svekkes og dør, kan også frigjøre mye smitte i elvene, som kan tenkes å påvirke yngel av native laksefisk. All pukkellaks dør etter gyting, og både de døende fiskene og kadavrene angripes av de sopplignende parasittene i slekten *Saprolegnia* spp. Disse kan også forekomme som patogene stammer som infiserer frisk fisk (Thoen et al. 2015), og det er mulig at en kan få et økt *Saprolegnia* spp. smittepress på stedegen fisk. Pukkellaksen kan også tenkes på være særlig mottagelig for alminnelige agens hos *Salmo* spp., og bidra til et økt smittepress på den måten. Dette er mulige smitteeffekter på de hjemmehørende norske laksefiskene. Motsatt, hvis pukkellaksen er så mottagelig for alminnelige agens hos *Salmo* spp., at larvene og yngelen har forøket dødelighet, og rekruttering og etableringen kan feile. Slike mekanismer er blitt foreslått som årsak til at regnbueørreten ikke etablerer seg i Norge (Karlsbakk et al. 2007).

Parasitter er et begrep som innbefatter alle parasittiske agens (virus, bakterier, sopp, protister og metazoer). De kan deles i to typer, infeksiøse mikroparasitter formerer seg på eller i verten, mens makroparasittene ikke gjør det. Dette er en meget viktig distinksjon, smitte med en mikroparasitt kan føre til sykdom og død (e.g. PD virus), mens en som regel må smittes mange ganger med makroparasitter for at verten skal bli skadet og syk (e.g. lakselus). Makroparasitter kan brukes som biologiske indikatorer på vertens beitevaner og habitatbruk (Nilsen 2006). Makroparasittene som man finner i pukkellaks er lignende som de man finner hos den atlantiske laksen (*Salmo salar*), noe som gir en indikasjon på at disse artene kan ha lignende føde i beiteområdene i havet. (Niemelä et al. 2016).

Langs den lange norske kysten er det zoogenografiske overgangssoner, hvor sørlige parasittarter forsvinner og erstattes av mere nordlige typer. For eksempel kan fisk bli infisert med mageikten *Hemiurus communis* sør for Lofoten, men de infiseres av søsterarten *Hemiurus levinseni* fra Troms og nordover. I åpent hav får fisken få typer parasitter hvor det er svært dypt (e.g. Norskehavet) i forhold til der det er relativt grunt (e.g. Barentshavet). Dette har med involvering av bunndyr i parasittenes livssyklus, så mange typer parasitter mangler over store dyp. Noen parasitter kan være knyttet til visse verter, og reetableres i predator fisk. Forekomsten kan altså reflektere dietten.

Marte Andrea Fjær

Et eksempel er infeksjonen i laks og torsk med mageikten *Hemiurus luehei*, en sildeparasitt, som da betyr at de har spist sild. Parasittsamfunn kan derfor gi informasjon som både aspekt ved vertens økologi, og om beiteområdene laksefiskene bruker (Williams et al. 1992) og når sammenhenger er veletablert, kan enkelte parasitter brukes til biologiske merker.

De første data på parasitter hos pukkellaks i Kvitsjø-området er fra 1960-tallet (Malakhova 1962). Hun fant 10 ulike arter av parasitter, derav 8 marine.

I ferskvann er laksefiskene verter for mange parasitter, som kan bringes med ut til havet. I havet blir laksefiskene infisert av ytterligere parasitter, enten direkte ved at de henger seg på (lus) eller trenger inn (cercarielarver, huden), eller via føden – inntak av infiserte byttedyr som er mellomverter (Berland & Bristow 1995).

De mest dominerende parasittene i Kvitsjøen var cestodene *Scolex pleuronectis* og *Eubothrium crassum*, trematodene *Derogenes caricus*, *Brachyphallus crenatus* og *Lecithaster gibbosus*, nematodene *Hysterothylacium aduncum* og *Anisakis simplex*. Ferskvannsfaunaen ble representert av ciliaten *Capriana piscium* og copepoden *Ergasilus sieboldi* på gjellene, og metacercarielarver av trematodene *Diplostomum* sp., *Ichthyocotylurus erraticus* respektivt inni øyet og i pericardiet, og glochidielarver av elveperlemusling (*Margaritifera margaritifera*) på gjellene (Ninburg 1963, Malakhova 1972, Grozdilova 1974). Disse siste er dels gamle infeksjoner fra ynglefase, dels nypåslag etter oppvandring i elva som gyteklare fisk (*C. piscium*, *E. sieboldi*, glochidier).

Nyere registreringer av parasitter som ble gjort i 2003 ga funn på 17 arter, derav: 1 type protozoa, 4 typer cestoda, 7 typer trematoda, 3 typer nematoda, 1 type Acanthocephala og 1 type Crustacea. Av disse er 13 arter marine (Ieshko et al., 2016). Disse parasittene infiserer fisken når de ernærer seg på bentiske organismer, zooplankton og fisk fra havet.

Når det gjelder virus og bakterieinfeksjoner er der svært lite informasjon, kun et mindre antall fisk er undersøkt for ILAV, SAV, IPNV, PMCV og IHNV uten funn (Skjåvik 2008, Kvamme et al. 2018). Fra elva Glomma ble pukkellaks som migrerte opp elva 2017 undersøkt for større parasitter, bendelorm *Eubothrium crassum*, rundorm *Hysterothylacium aduncum* og Kveis *Anisakis simplex* uten funn (Mo & Poppe 2018)

Parasittsamfunnets sammensetning i pukkellaks tatt på Vestlandet kan dermed ha potensiale til å gi informasjon om artens biologi i havet.

1.2 Målsetting

Hovedproblemstilling

Målsettingen for denne studien var å kartlegge parasitter (eukaryote makroparasitter, og utvalgte mikroparasitter) hos voksen opp vandrende pukkellaks fra Hordaland.

Det ble gjennomført disseksjon og parasittundersøkelse samt gjort molekylære analyser for å identifisere makroparasitter og avsløre infeksjon med mikroparasitter.

Resultatene vil kunne gi mer kunnskap om pukkellaksens som en bærer av ulike agens og dens potensielle påvirkning i norsk fauna.

Delmål:

- I) Er pukkellaksen bærer av viktige (skadelige) laksepatogener?
- II) Er pukkellaksen bærer av zoonotiske parasitter?
- III) Sammenligne parasittfaunaen i pukkellaks fra forskjellige fjordsystem og elver
- IV) Bruke parasittene som indikatorer, for pukkellaksens biologi i havet (Pippy 1980)
- V) Sammenligne med endemiske anadrome salmonider (litteratur)

Hypoteser

- I) Pukkellaksen er bærer av virulente laksepatogener
- II) Parasittfaunaen er lik mellom voksen fisk fra forskjellige fjorder og elver i Hordaland
- III) Pukkellaks i Norge er bærer av zoonotiske parasitter
- IV) Pukkellaks har høy likhet i makroparasittfaunaen med atlantisk laks, som følge av stor grad av diettoverlapp og felles beiteområder

2 Materiale og metoder

2.1 Anskaffelse av pukkellaks

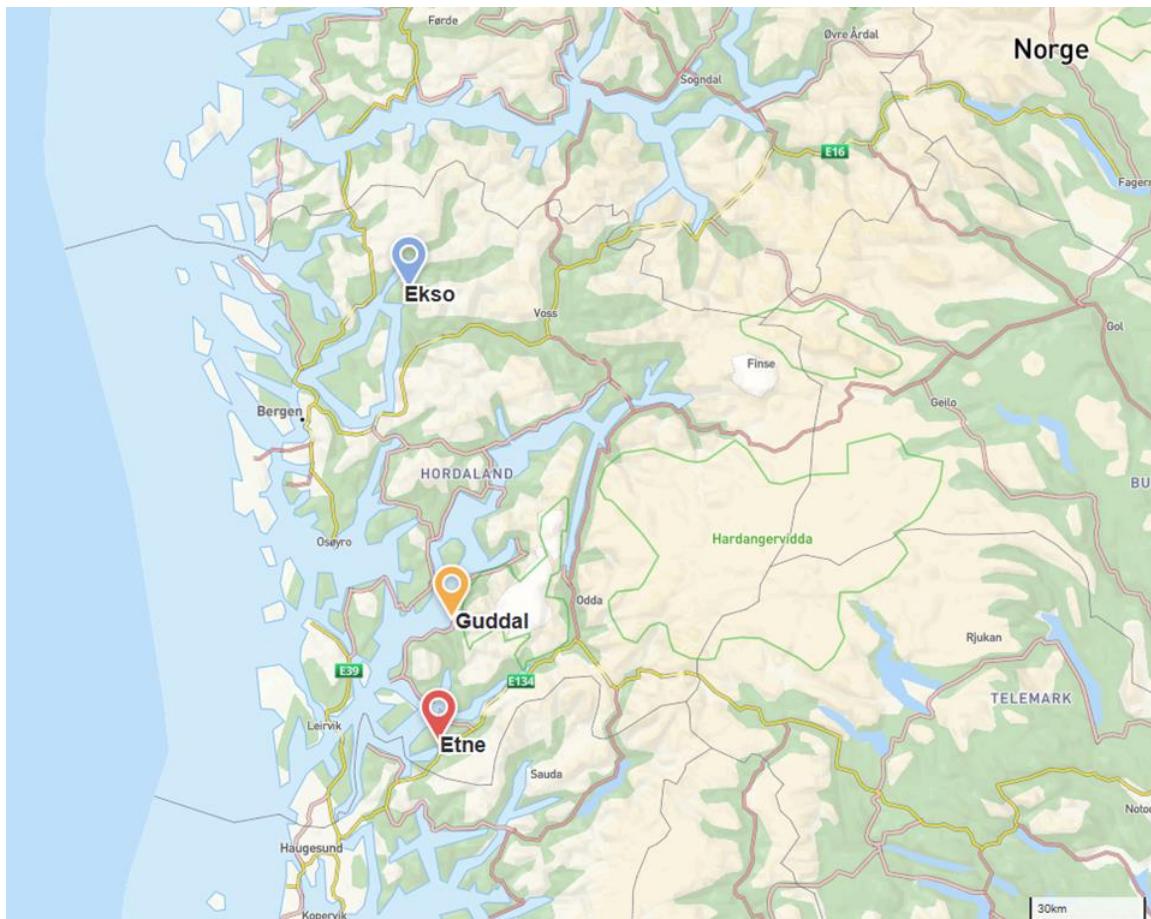
Studien fikk tilgang på pukkellaks fra tre elver på Vestlandet.

Alle pukkellaksene er tatt i Hordaland fylke; Etneelva (6.juli – 1.september 2017, $n=44$) og Guddalselva (4.august – 28.oktober, $n=12$) og i Ekso (Osterfjordbassenget)

(15.august, $n=24$), i det følgende vil kun stedsnavn (Etne, Guddal, Ekso) bli brukt om disse elvene. Fiskene fra Etne og Guddal ble avlivet på stedet og puttet i hver sin gjennomsiktige plastpose, merket med individnummer og lagt på frys. Fisk fra Ekso var nedfrossen i blokk uten individnummer.

Tabell 1. Oversikt over kjønns sammensetning, totallengde og vekt på pukkellaksen brukt til parasittundersøkelser. Snitt = gjennomsnittlig abundanse, Min = minimum, Max = maksimum, SD= standardavvik

Lokalitet	Kjønn	n	Lengde (cm)			Vekt (gram)		
			Snitt (SD)	Min	Maks	Snitt (SD)	Min	Maks
Etne	♂	30	50,1 (4,6)	42	59	1137 (289)	568	1643
	♀	14	45,8 (4,4)	41	59	923 (226)	417	1275
Guddal	♂	8	48,9 (4,3)	44	54	1066 (362)	631	1515
	♀	4	47,4 (3,9)	43	52	989 (357)	565	1325
Ekso	♂	20	53,0 (4,6)	45	65	1172 (277)	720	1771
	♀	4	45,4 (3,1)	43	50	719 (229)	457	1006



Figur 4. Oversikt over elvenes plassering i Hordaland.

Hentet fra Kommunekart.com og Norgeskart.no

2.2 Elvelokaliteter

ETNE

Etneelva er en av Vestlandets viktigste og største laksevassdrag. Den munner i Etnefjorden, den nasjonale laksefjord, hvor laksen er særskilt vernet.

I april 2013 ble ei fiskefelle montert i vassdraget i Etne med midler fra havbruksnæringa og Fiskeridirektoratet, Miljødirektoratet og Fylkesmannen i Hordaland. Denne fella skulle forhindre rømt oppdrettsfisk i å vandre opp i elva (Skaala et al. 2016) og forskerne ønsket også at slusesystemet skulle bidra til gode datasett på rømt oppdrettslaks, villlaks og



Fig 5. Laksefella i Etneelva. Foto: Øystein Skaala/HI

sjørørret (Hauge 2013). Etnefella er et pilotprosjekt eid av Fiskeridirektoratet, der Havforskningen har hovedansvaret for oppfølging og dokumentasjonen av prosjektet som er operativ per dags dato (Hauge 2013). Oppvandrende fisk blir sluset inn i et fangstkammer via en åpning. I fangstkammeret kan fisken håves opp en -etter- en for måling, veiing, prøvetaking og utsortering. Fangstkammeret blir sjekket flere ganger daglig i sesong (Hauge Marie, 2013). Etne elva var i 2017 den elva med størst fangst av pukkellaks i Hordaland, med 109 individer der flertallet av pukkellaksene ble tatt i fella (Berntsen et al. 2018). I tillegg kunne Per T. Fjeldheim fortelle at det ble sett pukkellaks 4 km lengre opp i elva (forbi fella), ved at den hadde klart å trenge seg gjennom fella med dens smale kroppsfasong og hurtighet.

GUDDAL:

Guddalselva ligger i Rosendal og Kvinneherad kommune i Hordaland og er en av de minste lakseelvene på Vestlandet. Guddalselva er godt kontrollert ved at den har laksetrapp og feltstasjon som gjør elva til en av de vassdragene med mest overvåkning, sammen med Etneelva.



Fig 6. Smoltfella i Guddalselva. Foto:HI

I Seimsfossen i Guddalselva har det siden starten på 1940-tallet vært ei laksetrapp, men i mai 2015 kom det i tillegg ei ny og forbedret laksetrapp i elva. Den gamle står fortsatt i elva, Havforskningsinstituttet benytter denne til å kartlegge laksefisk som kommer opp i elva.

Pukkellaks forekomsten i 2017 var , Øystein Solheim som er seniorforsker ved Havforskningsinstituttet hadde ikke registret en eneste pukkellaks i Guddalselva i 2018.

EKSOVASSDRAGET:

Eksovassdraget ligger i Modalen og Vaksdal kommune i Hordaland. Eksingvassdraget består av flere greier, der Ekso er hovedgreinen som renner ut i Eidsfjorden lengst inne i Osterfjorden.

Den øvre delen av Ekso består av trappetrinn med korte slake partier, med avbrudd av bratte stryk – og fossepartier. Den nedre delen har langstrakte rolige partier. (Anonym 2019). Det foregikk drivtelling i Ekso i 2017, der det ble fanget totalt 56 pukkellaks (Berntsen et al. 2018). Det ble ikke registert pukkellaks i elva 2018.



Fig 7. Eidsfossen i Eksovassdraget. Foto: Sveinung Klyve

2.1 Disseksjon og parasittundersøkelse

Totalt 80 pukkellaks fra disse tre elvene ble dissekert- og parasittundersøkt. En del av fisken fra Etne ble det tatt ut analyseprøver av for mikroparasitt-testing, etter at hodet hadde blitt sagt av de frosne fiskene med båndsg (se under). Disse fiskene ble derfor mottatt i to deler.

Undersøkelsen for parasitter inkluderte hele kroppsoverflaten, finner, gjeller, fordøyelsessystem, øyne, hjerne, alle indre organer samt muskulaturen. Disseksjon og undersøkelsen ble foretatt på parasitologilaboratorium ved Universitetet i Bergen (UIB).

Hver fisk blir undersøkt individuelt etter følgende prosedyre: Pukkellaksen ble tatt opp fra frys og tint i kjøleskap. Det tok vanligvis minst seks timer før fisken ble passe opptint. Plastikkposen som pukkellaksen kom i ble skylt og restene samlet i en fin sil. Innholdet ble så undersøkt under sterolupe (Wild Herrbrugg) på 6,5-40 x forstørrelse, for å sikre at alle parasitter blir registrert. Fiskens gaffel- og totallengde ble målt og fiskens vekt registrert. Fettfinnen klippes av og legges i individuelle zip-poser med identitetsnummer for genetikk prøvetaking (HI). Deretter ble fisken undersøkt for utvendig for ektoparasitter og svartprikkparasitten (cyster med metacercarielarver av ikten *cryptocotyle lingua*, vanligvis omgitt av svart pigment). Her ble det brukt godt lys. Deretter ble alle parrede finner samt dorsal- og gattfinne klipt av, og undersøkt nøye under lupe.

Bukhulen ble så klippet opp langs med buk fra gjeller og bak til nær gattet. Innvoller ble sjekket visuelt for nematodelarver (*Anisakis simplex* og *Hysterothylacium aduncum*) før og under uttak av organene. Lever, galleblære, gonader, svømmeblære, milt og mage-tarmsystem ble så lagt i separate petriskåler med fysiologisk saltvann (fortynnet sjøvann, ca 10 promille). Hjertet og nyren ble undersøkt makroskopisk for hvite prikker (e.g ikke metacercarier) eller andre forandringer.

Gallevæsken ble mikroskopierte med lysmikroskopet (Olympus cx 41) ved 100x og 400x forstørrelse for myxosporidiesporer. Organene ble først undersøkt makroskopisk, deretter ble det brukt gjennomlysning etter flating av vev og tarminnhold ved hjelp av en ekstra glasspetriskål når undersøkt under lupe. Parasitter som ble funnet, undersøktes nærmere i mikroskop, og artsbestemmes om mulig. Alle parasitter med usikkerhet ved identifikasjon ble det tatt bilde av, vanligvis ved lav og større forstørrelse (40x, 100x og 400x) alt etter type (Olympus sc30 kamera på Olympus cx 41 mikroskop). De ble deretter konserverte i 75-96% etanol tilsatt litt glyserol. Fisken kjønnsbestemmes ved å se på gonadene.

Mage-tarmsystemet ble delt opp i syv deler; svelg, øsofagus (spiserør), mage, pylorusblindsekker med tilhørende del av tarmen, «tynntarm», tykktarm og anus. Det ble tatt ut en analyseprøve av tarmen av hver fisk i overgang tynn-og tykktarm. Denne prøven, med litt tarmvegg og litt tarmvæske konserverert i 96% etanol, ble brukt til PCR analyser for tarmflagellater fra slekten *Spironucleus* spp.

Innholdet fra de respektive fordøyelsestraktregionene ble så skrappt ut med skalpell i hver sin glasspetriskål med fysiologisk saltvann, og undersøkt under lupe med og uten underlys. Mage-tarmveggene ble så presset mellom (to glasspetriskåler ble brukt) og undersøkt under lupe med underlys. Ved funn av parasitter; ble disse pipettert eller dissekert ut til skåler med fysiologisk saltvann, vasket identifisert/fotografert, grovmålt (til 0,5 mm) og konserverert i etanol.

Øynene ble så klippet ut og linse, glasslegemet og retina undersøkt under sterolupe for øyeikter. Alle gjellebuer ble klippe av, lagt i petriskåler med vann og undersøkt under sterolupe på 6,5-40 x forstørrelse. Det ble så tatt ut en liten spritprøve av pseudobrankien for PCR testing etter infeksjon av myxosporidien *Parvicapsula pseudobranchicola*. Det ble også laget utstryk av pseudobrankievev på objektglass, som ble lufttørket. Disse ble senere farget og undersøkt for parasittens sporer, men kun hos PCR positiv fisk.

Hjernen ble så blottlagt, og en bit av medulla oblongata tatt ut, lagt på et objektglass og most med et dekkglass. Mikroskopiering på høy forstørrelse av slike preparater vil avsløre forekomst av myxosporidiesporer (*Myxobolus* spp.). Muskulaturen ble til sist sjekket makroskopisk for rundormlarver. Det ble lagt et langsgående snitt i muskulaturen og filetdelene ble studert for tegn på e. g *Anisakis simplex*.

Hjernen; en bit av medulla oblongata ble tatt ut, lagt på objektglass med dekkglass og sett på under mikroskop for å se etter *Myxobolus neurobius*. Muskulaturen ble sjekket med det blotteøyet ved å legge et langsgående snitt i muskulatur og se etter parasitter som kan befinne seg i fileten, særlig den zoonotiske nematoden *Anisakis simplex*. Det lages utstryk av pseudobrankien på objektglass, som lufttørkes. Disse farges og undersøkes for mikrosporidiesporer, hvis PCR positiv fisk.

2.1 Prøvemateriale

Vevsprøver fra tarm og høyre pseudobrankie ble tatt til sprit (75-90%) fra hver fisk, for PCR testing etter av mikroparasittene *Spironucleus* spp. og *Parvicapsula pseudobranchicola* respektivt. Disse kan vanligvis ikke påvises i frossen fisk (sporestadier av *P. pseudobranchicola* kan påvises). Det ble gjort et valg av totalt 30 fisk for testing etter *Parvicapsula pseudobranchicola* infeksjon. Da påvisning kan ha med lokal smitte som kan variere over tid, ble det valgt ut 20 fra Etne (10 tidlig ankomne, 10 sene og 10 fisk fra Ekso). Den eventuelle forekomsten av testing *Spironucleus* spp. i tarmen ble testet på 43 fisk fra Etne. Utvalgte parasittindivider av larvetyper som ikke lot seg artsbestemmes morfologisk, ble søkt identifisert ved rDNA sekvensering. Disse representerte iktelarver, bendelormlarver og forskjellige morfotyper av juvenile bendelorm fra tarmen. Det ble også sekvensert LSU rDNA fra enkelte trematoder som kan representere artskomplekser (referansesekvenser). Det ble da brukt prøver fra laks i Norskehavet, tilbakevandrende laks i Norge og fra sjøørret for sammenligning (se under).

Det ble tatt frosne vevsprøver fra 40 pukkellaks tatt i Etnefella for virustesting. De fleste av disse ble brukt i parasittstudiene (32) men 8 virustestede fisk inngikk ikke. Dette var tilfeldig. Det ble tatt prøver av hjertets ventrikkel, som det ble rensset RNA fra og testet virus: salmonid alfavirus (SAV), piscine myokarditvirus (PMCV), og piscint orthoreovirus (PRV1).

Hodenyreprøver ble også tatt, og RNA fra de ble testet for infeksjons hematopoietisk nekrose (IHNV) og infeksjons pancreasnekrose.

Virustesting ble gjort av Pharmaq Analytic i Bergen med deres *in-house* q-PCR assays for disse agensene, unntatt PRV1 som ble testet ved HI med et sigma3 (S1) gen assay (se e.g Wessel et al. 2015). Det ble også tatt frosne gjelleprøver som ble qPCR testet for forekomst av mikroparasitter som er alminnelige i oppdrettslaks, knyttet til gjelleproblemer på høsten. De utvalgte agensene var den ektoparasittiske flagellaten *Ichthyobodo salmonis*, mikrosporidien *Desmozoon lepeoptheirii* og den epiteliocyst-dannende bakterien *Candidatus Branchimonas cysticola*. Disse RNA rensingene og analysene ble også kjørt av Pharmaq analytiq. Assayene «Costia» (Isaksen 2012). «Nuc» (Nylund et al 2010.) og «Epi» (Gunnarsson et al 2017) ble brukt mot de representative mikroparasittene, målgenet var i alle tilfellene SSU rDNA som SSU rRNA.

Fettfinnene til hver pukkellaks ble sendt til HI, der de skal brukes til fremtidige fettsyre og genetikkanalyser

2.2 Farging og mikroskopiering av preparat

Lufttørkede utstryk av pseudobranchieev fra fiskene funnet positive for myxosporidien *Parvicapsula pseudobranchicola* ved PCR-analyse, ble farget med Hemacolor. Dette fargingssettet (Hemacolor® Rapid staining of blood smear – Merck Millipore) består av tre bruksløsninger, samt en bufferløsning. Fargene ble gjort etter instruksjonen (se nedenfor) med etterfølgende differensiering i en fosfatbuffer (pH 7,2) i 15-20 min. Dekkglass ble så montert med Histokitt.

Likedan fargede utstryk fra infisert oppdrettslaks fra Troms ble brukt som kontroll ved mikroskopieringen. Det ble brukt 400-1000x forstørrelse (Olympus CX41 mikroskop).

2.3 DNA-ekstraksjon

Ved ekstraksjon av DNA fra vevsprøver og parasitter ble det brukt E.Z.N.A.® Tissue DNA Kit (Omega Bio-Tek) og utføres etter følgende steg:

1. Det utvalgte vevet ble delt opp i egnet mengde (30mg).
200µl TL buffer og 25 µl OB proteaseløsning ble mikset og spinnet ned, før inkubering i varmblokk ved 55°C overnatt.
2. Neste dag fortsatte prosessen ved å sentrifugere prøvene ved (13 000 x G) i 5 minutter. Supernatetet ble overført til et nytt sterilt mikrosentrifugerør. 220 µl BL buffer ble så tilsatt, mikset og spinnet, og inkubert ved 70°C i 10 min i varmeblokk.
3. 220µl 100% etanol ble tilført prøven. Etanol tilsettes for å kunne skille DNA-et fra alt det andre i cellen, slik at man får sammensetning til å binde DNA til kolonner.
4. HiBind® DNA Mini kolonnene settes ned i vakuum manifolden. Hver prøve ble tilført til hver sin kolonne. Disse ble vakuumert i ca 1min
5. 500ul HBC buffer ble deretter tilsatt. Vakuumert i 30 sekunder eller lengre ved behov. Ved behov menes at man skal vakuumere helt til all væsken har trukket ned i filteret.
6. 700µl DNA Wash Buffer tilsettes. Vakuumert i 30 sekunder.
7. Steg 6 gjentas for et ekstra DNA Wash buffer steg.
Vakuumeres i 2 minutter slik at all løsning gikk helt ned i filteret.
8. HiBind® DNA Mini kolonnene ble overført til sterilt 1,5mL mikrosentrifugerør.
50-150 µl Elution Buffer oppvarmet til 70°C tilført i mikrosentrifugerørene. Prøvene fikk hvile i romtemperatur i noen minutter før de ble sentrifugert ned ved (13 000 x G) i 1 min.

Konsentrasjon (ng/µl) av DNA-mengden i prøven ble målt ved bruk av et spektrofotometer (*NanoDrop*® *ND-1000*). Før de representative prøvene ble målt, ble sensoren i spektrofotometeret vasket med 1,5 µl Elution buffer, samt en prøverunde med Elution buffer for kalibrering av instrumentet. Samme mengde volum ble brukt ved måling av DNA-produktene og sensoren ble tørket av mellom hver måling med linsepapir. Prøvene ble fryst ned ved -30 °C og oppbevart i påvente av videre analysing.

2.4 Polymerase kjedereaksjon

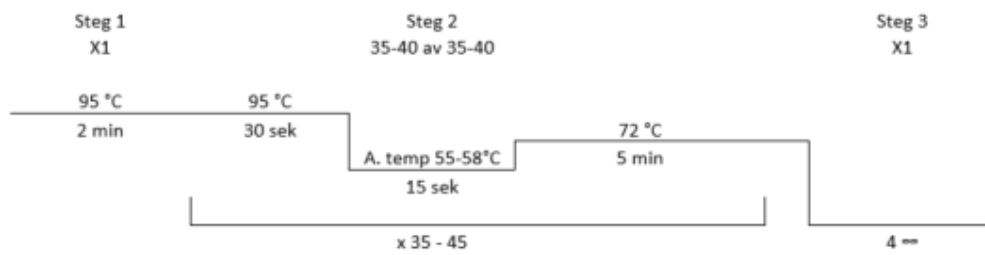
Polymerase kjedereaksjon (PCR) ble gjort på DNA fra tarm og pseudobrankie- prøver, samt et utvalg av parasitter. PCR er en metode som benyttes for å kunne oppformere spesifikke nukleotidsekvenser i en eksponentiell amplifikasjonsprosess. Oppformeringsprosessen ble utført ved bruk av en reaksjonsmiks i henhold til Tabell 2.

Tabell 2. Tillagning av PCR- reaksjonsmiks for LSU rDNA

Reagenser	Volum per prøve (µl)
GoTaq ® Master Mix*	10
Forward primer	1
Reverse primer	1
DNA templat	1
Nuklease-fritt vann	7
Total reaksjons volum	20

*Det ble benyttet GoTaq® Colorless Master Mix og GoTaq ® Green Master Mix.

PCR-reaksjonen foregikk i en varmeblokk (*Veriti™ 96-Well Thermal Cycler - appliedbiosystems by Thermo Fisher Scientific*). Varmeblokk har den egenskap at den regulerer temperaturen til prøvene under de i ulike fasene. De ulike fasene består av en initierende denatureringsfase, en fase med 35-45 sykluser med denatuering, annealing og elongering, og slutfasen består av en avsluttende elongering hvor temperaturen går ned til 4°C og holdes stabil. (Fig.8). Syklusene dobler antallet av DNA for hver runde. Det benyttes høy temperatur i denatureringsteget. Det må høy temperatur til for å kunne bryte opp og separere dobbeltrådig DNA (dsDNA) til enkelttrådet DNA (ssDNA) som primere kan feste seg til. I amplifiseringen senkes annealing temperaturen. Annealing temperaturen avhenger av den optimale temperaturen for hvilken primerkombinasjon som brukes, slik at primeren skal kunne danne basepar med målsekvensen i DNA`et. Under elongeringen skal temperaturen ligge mellom 72-74, dette er en optimal temperatur for Taq DNA polymerasen. Ved optimal temperatur vil Taq DNA polymerasen få evne til å syntetisere en komplementær dsDNA-tråd ved å binde nukleotider (dNTP) til den opprinnelige ssDNA-tråden. Sluttprosessen består av et steg hvor temperaturen går ned til 4 °C og holdes stabil ved denne temperatur til prosessen er ferdig behandlet. Antall sykluser som blir benyttet kommer ann på hvor mye DNA fragment-mengde man ønsker å oppnå, i disse tilfeller ble det brukt fra 34- 40 sykluser.



Figur 8 Illustrering av de ulike fasene ved PCR.

Steg 1: Oppstartende denaturering prosessen varmes opp til 95 °C i 2min. Steg 2: 35-40 sykluser med denaturering på 95 °C i 30 sek, amplifisering ved en annealing temperatur på 55-58°C i 15 sek og 90 sek med elongering på 72 °C. Steg 3: Avsluttende elongering på 72°C i 5 min og deretter ned til 4°C hvor den holdes stabil.

Tabell 3. Primere brukt i PCR reaksjoner for deteksjon av parasitter eller identifisering ved rDNA sekvensering av parasitter for identifikasjon.

Målgen, art	Primer navn	F/R	Sekvens (5'-3')	Annealing temp. (°C)	Ref.
18S, <i>Spironucleus</i> spp ^a	Spir EK-F2	Fwd	GATAGGGACAGGTGAA ATAG	55	EK ^b
18S, <i>Spironucleus</i> spp ^a	Spir EK-R1	Rev	AGTACGCGTGCGCCTA	55	EK ^b
18S, <i>Parvicapsula</i> sp.	PcPcF3	Fwd	CAACACGGAATCAGTC CGA	58	EK ^b
18S, <i>Parvicapsula</i> sp.	PcPcR1	Rev	CGGACCTGGTGAGTTGC	58	EK ^b
28S, <i>Helminthes</i> ^c	LSU5	Fwd	TAG GTC GACCCG CTG AAYT TAAGC	54	Olson et al.2001
28S, <i>Helminthes</i> ^c	1200R	Rev	GCA TAG TTCACCATC TTTCGG	54	Olson et al. 2001
28S, <i>Platyhelminthes</i>	28SF1	Fwd	GAAWAGCCCAGCACCG AAGC	56	EK ^b
28S, <i>Platyhelminthes</i>	28SF2	Rev	TCCCYTAGTAACGGCGA GTG	57	EK ^b
28S, <i>Platyhelminthes</i>	28SR1	Rev	CACCATCTTTCGGGTCT CAAC	56	EK ^b
28S, <i>Platyhelminthes</i>	28SR3	Rev	TCTGGCTTCAACCTACG CAAG	55	EK ^b
28S, <i>Platyhelminthes</i>	300F	Fwd	CAAGTACCGTGAGGGA AAGTTG	55	Telford et al. 2003

^aDesignet for å ta arter fra laksefisk (*S. salmonicida*, *S. barkhanus*, *S. salmons*), ^bNye primere designet av Egil Karlsbakk (2018),

^c Generelle eukaryot primere. . F/R, forward eller reverse.

Positiv kontroll ble benyttet i PCR analysene, som gav produkt og dermed bånd av rett lengde som andre produkter kunne sammenlignes med. De positive kontrollene bidro også med sikkerhet til at negative resultater kunne tilskrives fravær av templat, og ikke faktorer som feilpipettering og uegnet PCR reaksjonsmiks. De positive kontrollene brukt i PCR amplifisering er listet i tabell 3. Negativ kontroll ble brukt for å unngå falske negative prøver, her ble nuklease-fritt vann og genomisk DNA fra *Salmo salar* (Hordvik et al. 1997) benyttet. DNA fra *Salmo salar* ble tatt med for å ha kontroll over primerene som ble benyttet for å identifisere parasittene, amplifiserte fisk eller ikke.. Noen av parasittene spiser fiskens vev når de befinner seg inni verten, og alle vil kunne kontaminere på overflaten med vertens DNA. Dette kan medføre amplifikasjon av vertens DNA i stedet for parasittens hvis primere er generelle. Dette ble et problem på Platyhelminthes, og var årsaken til at nye mere spesifikke primere ble utviklet (tab 4.)

Tabell 4. Positive kontroller benyttet i assay. a- Egil Karlsbakk, b- KR- Kristian Ruud , c- Marte Fjær

Agens	Vert	Organ	Sted	Dato	Kilde
<i>Spiroucleus cf. barkhanus</i>	Ørret (<i>Salmo trutta</i>)	Galleblære	Byglandsfjorden	12.12.13	E. K ^a
<i>Parvicapsula pseudobranchicola</i>	Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	Pseudobranchie	Solheim, Troms	06.11.07	E. K ^a
<i>Eubothrium sp.</i>	Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	Tarm	Kobbavik	19.11.18	K.R ^b
<i>Eubothrium crassum</i>	Pukkellaks (<i>Oncorhynchus gorboscha</i>)	Tarm	Etne	14.08.17	M. F ^c
<i>Scolex bothriosimplex</i>	Lodde (<i>Mallotus villosus</i>)	Tarm	Barentshavet	Juni 2015	E. K ^a
<i>Scolex bothriosimplex</i>	Lysprikkfisk (<i>Kreftichthys anderssoni</i>)	Tarm	Sørishavet	13.03.08	E.K ^a
<i>Lecithaster gibbosus</i>	Atlantisk laks (<i>Salmo salar</i>)	Tarm	Bortneelva	30.10.01	E.K ^a
<i>Derogenes varicus</i>	Sik (<i>Coregonus lavaretus</i>)	Mage	Sandnesfjorden/Risør	Juni 2016	E. K ^a
<i>Bothriocephalus cf. gregarius</i>	Piggvar (<i>Scophthalmus maximus</i>)	Tarm	Espegrend	07.11.16	E. K ^a
Cestode larve (Diphyllobothriid)	Tverrhalet langebarn (<i>Leptoclinus malaculatus</i>)	Mesenterie	Barentshavet	Mai 2015	E. K ^a
<i>Scolex pleuronectis</i>	Laksesild (<i>Mauroliticus muelleri</i>)	Tarm	Barentshavet	28.05.15	E. K ^a

2.5 Gel elektroforese og sekvensering

Gel elektroforese ble brukt for å analysere om det riktige resultat ble oppnådd, det vil si ett produkt og av riktig lengde. Stam gel løsningen ble tillaget av 200ml 1 x Tris-acetate acid – EDTA (TAE) buffer blandet med 2,00 gram agarose (SeaKem ® LE Agarose) og 20 µm av dette pluss 2 µl GelRed™ var brukt i hver gel. Når gelen stivnet etter ca en halvtime, fylles gelkaret opp ved å helle 1 X TAE over brønnene slik at hele gelen tildekkes og volumet når opp til maks-merket på gelkaret.

5 µl PCR-produktet og 3 µl Quick-load ® purple 2-log DNA ladder (0,1-10,0 kb) ble tilsatt i hver brønn.

Deretter kobles dette til en strømkilde på 60-80 Volt i 40-60minutter. GelRed binder seg til dsDNA og inkluderer en fluoriserende farge som kan bli detektert med UV-lys.

Gelen ble lagt inn i en UV-avleser, *Carestream GelLogic 212 PRO*, for visualisering og fotografering av resultat. DNA ladder ble benyttet som en størrelsesmarkør (DNA-fragment med kjent størrelse) for å sammenligne størrelsen og se om den estimerte «båndlengden» er forenelig med den forventede produktstørrelsen ved visualiseringen.

Rens av DNA før sekvensering:

Etter evaluering av båndene på gel, ble PCR-produktet til disse med tydelige og riktig båndlengde til målgenet rensed ved bruk av ExoSAP-it før sekvensering.

Exonuclease I + Shrimp Alkaline Phosphatase (ExoSAP) er en metode som blir benyttet til rens av templat. Dens egenskap er enzymatisk nedbryting av primere og de frie trifosfat-nukleotider (dNTPs), slik at disse ikke er med på å forstyrre prosessen for en vellykket sekvensering. Reaksjonsvolum består av templat tilsatt ExoSap-it. Antall PCR-rør som skal ordnes til avhenger av antall prøver som skal sekvenseres.

Prøvene tillages (tab.5) og settes inn i PCR-maskin (*Veriti™ 96-Well Thermal Cycler*) på program ved følgende betingelser; Inkubering ved 37 °C i 15 min slik at primere og nukleotider blir fjernet. Deretter 15 min ved 80 °C for inaktivering av enzymer.

Tabell 5. Tillaging av ExoSap reaksjon for rensing av templat

Reagener	Volum per prøve (µl)
ExoStar	1,0
Templat	2,5
Total reaksjonsvolum	3,5

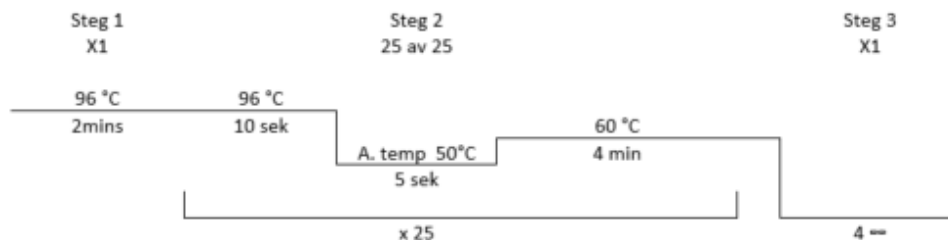
Sekvenserings reaksjon:

For sekvensering ble det kjørt en syklus sekvenserings-reaksjon hvor hvert produkt blir kopiert med begge primere hver for seg. Dette vil si at hver primer (en forward og en reverse) blir tilsatt i hvert sitt rør og det kjøres individuelle reaksjoner. For tillagning og ingredienser til sekvensering-reaksjonsmiks for sekvensering se tabell 6.

Tabell 6. Sekvenseringsreaksjon for amplifisering av LSU rDNA

Reagener	Volum per prøve (µl)
Forward eller reverse primer	0,5
BigDye (Versjon 3.1)	1,0
Sekvenseringsbuffer	1,0
Nuklease-fritt vann	6,5
Templat (ExoSap behandlet PCR-reaksjon)	1,0
Total reaksjonsvolum	10,0

Reaksjonen settes inn i PCR-maskinen (*Veriti™ 96-Well Thermal Cycler*) på tilegnet program for sekvensering. Prosessen består av 3 steg. Steg 1 denaturering ved 96 °C i 5 min, steg 2 består av 25 sykluser; denaturering 96°C 10 sek, annealing ved 50°C i 5 sek og elongering ved 60°C i 7 sek. I steg 3 går temperaturen ned til 4 °C. som vist i figur 9.



Figur 9. PCR-program ved amplifisering for sekvensering til andre runde med syklus

Når prøvene i PCR-maskinen holder en stabil temperatur på 4°C tas dem ut, spinnes/mikses og tilsettes 10 µl nuklease-fritt vann.

PCR-produktet ble så levert til sekvensering ved sekvenserings- laboratoriet, Høyteknologisenteret i Bergen (<https://www.uib.no/seklab>). Sekvensene ble satt sammen og analysert ved bruk av programmet Vector NTI® (Versjon 9,0) software (Invitrogen™) og BLAST søkebasen. (Basic Local Alignment Search Tool) ved NCBI (National Center for Biotechnology Information).

2.5 Tallbehandling og statistikk.

Tall ble registrert ved bruk av Microsoft office 350 ProPlus i programmet Excel.

Statistiske analyser ble gjort med programmet *Statistica* versjon 13.3 (TIBCO Software Inc.), eller i Microsoft Excel (KT testing, se under). Forskjeller ble regnet signifikante hvis $p < 0,05$.

Fisher's eksakt test (FET) ble brukt til å teste binomiale data (sammenligning av prevalens) i to prøver, mens Kontingens tabeller (KT) ble brukt for å undersøke om det var forskjell i prevalens mellom de tre elvene. I Noen tilfeller forekom da lave forventede verdier i noen celler, så disse resultatene ble derfor verifisert med FET.

Parasittantallene i vertene var som regel aggregerte og frekvensfordelingene ikke normale. Derfor ble det brukt ikke-parametriske statistiske tester ved analyser hvor abundans var en variabel. Abundansen i to prøver ble sammenlignet med Mann-Whitney tester (MW), med test-statistikken Z . Kruskal-Wallis tester (KW) og teststatistikken H ble benyttet ved sammenligning av abundansen i mer enn to prøver.

Korrelasjoner ble undersøkt med Spearman's rang korrelasjons-koeffisienter (r_s).

3 Resultat

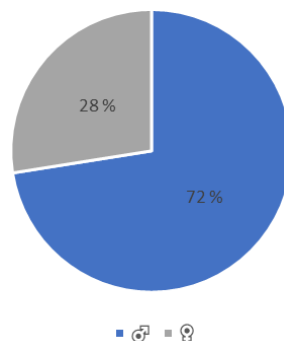
3.1 Makroparasitter

Det ble registrert infeksjoner med minst 16 parasittarter i de totalt 80 pukkellaksene som ble undersøkt ved disseksjon. Alle individene (100%) var infisert med flere parasittarter, fra 2 til 9 arter per individ. Gjennomsnitt arter parasitter per individ var 5,0 (SD 1,4), 4,9 i hunner og 5,0 i hanner. Av parasittartene, forekom 9 arter som larver og juveniler, og 8 som voksne. Rundormen *Hysterothylacium aduncum* forekom både som inne kapslede larver i viscera og som frie umodne og voksne i mage tarm-trakten og inngår i begge kategoriene. To arter ektoparasitter ble funnet, og 14 arter endoparasitter. Av endoparasittene forekom 10 arter inne i mage-tarmtrakten, og 5 var inne kapslede i fiskens vev.

Det ble funnet totalt 16986 metazoe parasittindivider i de undersøkte pukkellaksene. Av de var 4841 (28,5%) voksne og 12145 larver/juveniler (71,5%). Av de siste forekom 13,2% frie i mage-tarm-trakten, mens 86,8% var inne kapslede. Nesten alle (99,2%) disse siste var av en art, *Cryptocotyle lingua* metacercarier inne kapslet i hud og finner (se under). Gjennomsnittlig hadde hver pukkellaks 212 parasittindivider, fordelt på 61 voksne og 152 larver.

Kjønnfordelinge i elv kan ha betydning for replikasjonsuksessen med hensyn på etablering av populasjoner. Total andel av hanner sin forekomst i elvene samlet var over det dobbelte av hunner (tab.5 & fig.9) Andelen av hunner i hver av elvene Etne, Guddal og Ekso var henholdsvis 32%, 33% og 17% (KT, % (KT, $\chi^2_{2df}=2,3$, $P=0,32$). Flesteparten av alle fisk ($n=80$) som ble undersøkt var gytemodne, og kun få tallet var ferdig gytt.

Kjønnfordeling i Etne, Guddal og Ekso



Figur 10. Oppsummering av den totale fordelingen av hunn-fisk (♀) - og hannfisk (♂) hos pukkellaksene fra Hordaland.

Tabell 7. Resultater med oversikt over alle testede agens med site, prealens, abundanse og intensitet fra undersøkte pukkellaks på Vestlandet.

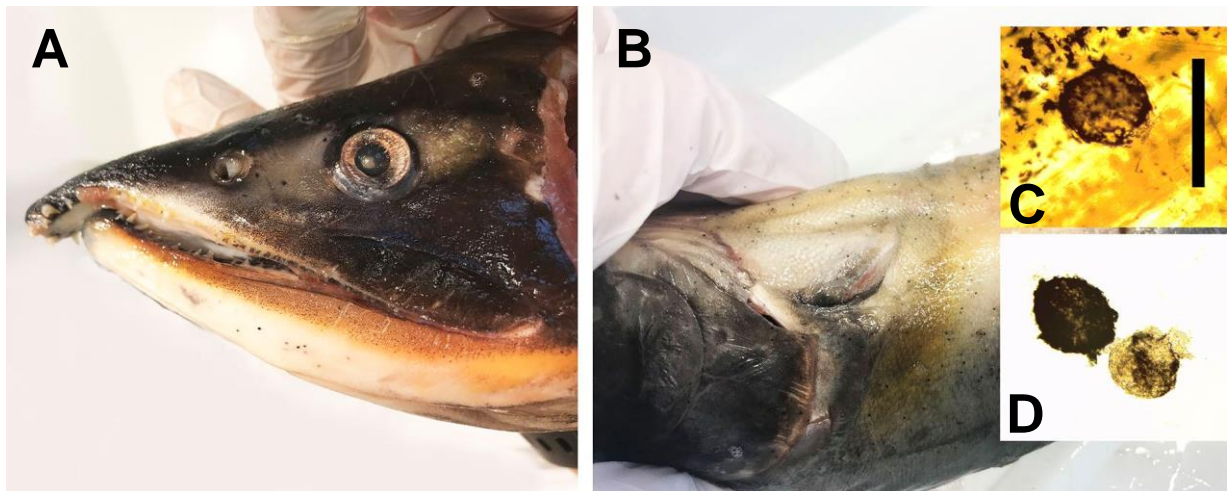
Agens	Site	n	Prevalens %	Abundanse		Int. Max
				Snitt	SD	
Virus						
ISAV	Hjerte	40	0	-	-	-
IPNV	Hjerte	40	0	-	-	-
IHNV	Nyre	40	0	-	-	-
PMCV	Hjerte	40	0	-	-	-
PRV	Hjerte	40	0	-	-	-
SAV	Nyre	40	0	-	-	-
Bakterier						
<i>Candidatus Branchimonas cysticola</i>	Gjelle	43	2	-	-	-
Microspora						
<i>Desmozoon lepeophtherii</i>	Gjelle	43	60	-	-	-
Euglenozoa						
<i>Ichthyobodo</i> spp.	Gjelle	43	88	-	-	-
Diplozoa						
<i>Spironucleus</i> spp.	Tarm	43	0	-	-	-
Myxozoa						
<i>Parvicapsula pseudobranchicola</i>	Pseudobranchie	30	7	-	-	-
Trematoda						
<i>Cryptocotyle lingua</i> (M)	Hud	80	63	130,8	310,3	1221
<i>Apatemon gracilis</i>	Svelg	80	1	0,01	0,11	1
<i>Derogenes varicus</i>	Magesekk	80	89	32,2	88,6	720
<i>Hemiurus luehei</i>	Magesekk-Tarm	80	3	0,03	0,16	1
<i>Hemiurus communis</i>	Magesekk-Tarm	80	4	1,1	8,1	72
<i>Branchyphallus crenatus</i>	Magesekk-Tarm	80	1	0,03	0,22	2
<i>Lecithaster gibbosus</i>	Tarm	80	70	20,7	74,6	608
Cestoda						
<i>Scolex pleuronectis A</i> (Pl)	Tarm	80	59	3,9	7,1	459
<i>Scolex pleuronectis B</i> (Pl)	Tarm	80	44	12,8	58,0	43
<i>Eubothrium</i> sp. cf. <i>crassum</i>	Tarm	80	34	3,2	10,6	87
<i>Diphyllbothrium</i> sp. (Pl)	Magevegg	80	15	0,2	0,5	3
<i>Scolex bothriosimplex</i> (Pl)	Tarm	80	6	0,1	0,3	2
Nematoda						
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (L3)	Viscera	80	25	0,4	0,8	4
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (Lum)	Fordøyelsestrakt	80	79	5,8	8,0	53
<i>Anisakis simplex</i> (L3)	Viscera	80	25	0,5	1,5	12
Copepoda						
<i>Lepeophtheirus salmonis</i>	Hud	80	3	0,03	0,16	1
<i>Salmincola salmoneus</i>	Gjeller	80	3	0,6	4,2	36

Int, intensitet. M, metacercarie. Pl, plerocercoid. L3, infektiv larvestadie. Lum, juvenil stadie som lever fritt i tarm.

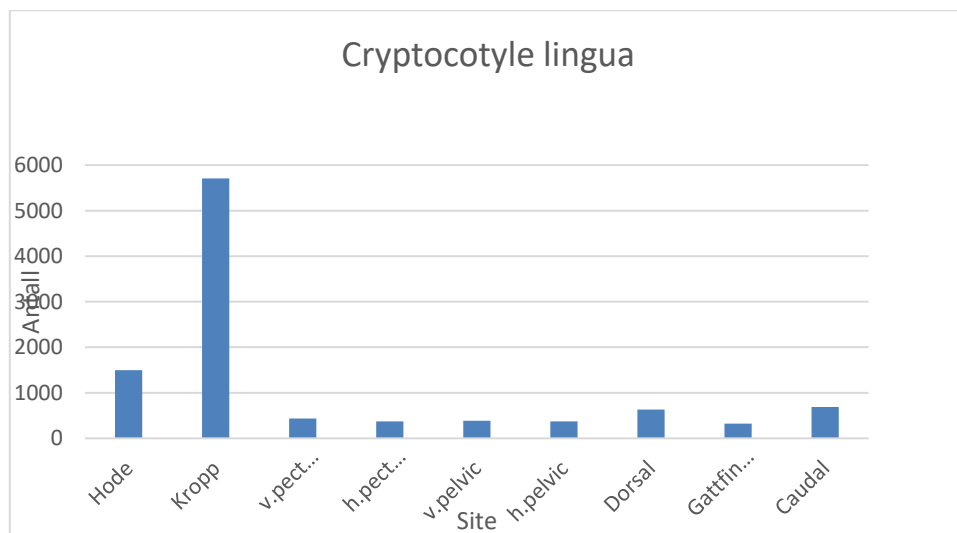
Trematoder

Cryptocotyle lingua (Creplin, 1825) - Svartprikkparasitten

Det ble funnet svarte prikker i skinn og finner hos en del av fiskene. Disse ble funnet å representere metacercarie larver av ikten *Cryptocotyle lingua* inne kapslet i melaninomsluttende cyster. De fleste metacercariene (55%) ble observert på kroppen, 14% på hodet og 31% var i finnene. (fig.11). Parasitten hadde høy forekomst (>60% prevalens) og intensiteten var 1221 (tab.7).



Figur 11. Pukkellaks fra Guddal infisert med *C. lingua* på A) Hodet og B) kropp. C) Innekapslet metacercarie larve in situ i brystfinnen, D) Metacercarie i kapsel, dissekert ut fra finne. Stav 500µm



Figur 12. Fordeling av *C. lingua* på forskjellige kroppsdeler hos pukkellaks (oppsummert med alle elver). h, høyre. v, venstre.

Apatemon gracilis (Rudolphi, 1819)

En umoden trematode (metacercarie, Strigeidae) ble funnet fri i skrap fra mucosa i svelget på en pukkellaks fra Ekso (O21). Metacercarien (fig.13) målte 930 μm i lengde og 410 i bredde. Oral sugeskål hadde en diameter på ca. 93, ventral aksessorisk sugeskål målte 187 i bredde og 159 i lengde.

Metacercariens vev hadde høy tetthet av runde kalklegemer (8-16 μm).

En LSU rDNA sekvens av metacercarien hadde 100% identitet (864 bp sammenlignet) med sekvenser av den strigeide trematoden *Apatemon gracilis* fra øyets glasslegeme i trepigget stingsild fra Takvatn, Troms (KY513177), og cercarier fra sneglen *Radix balthica* (KY513175-76) fra samme sted.

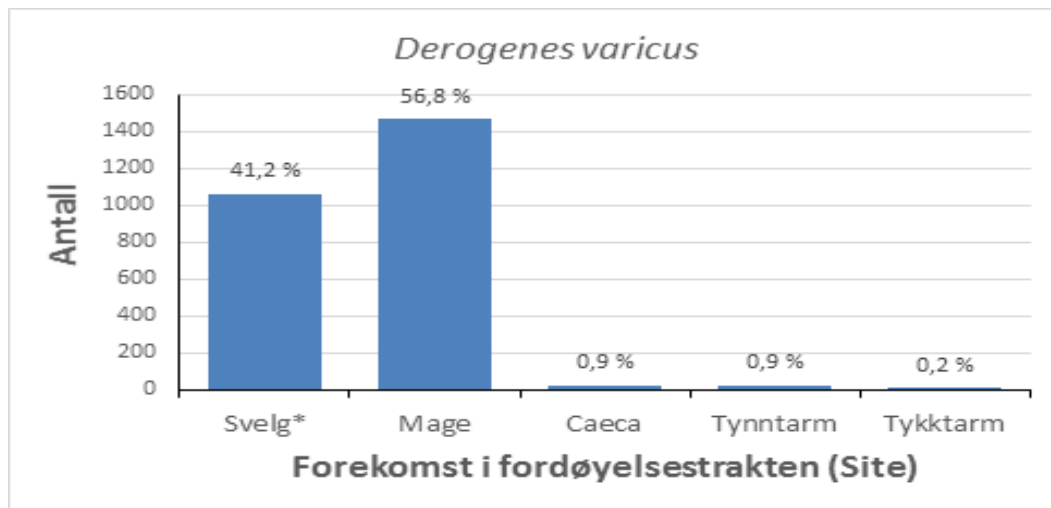


Figur 13. *Apatemon gracilis* metacercarie funnet i svelg hos pukkellaks fra Ekso. Stav 500 μm

Derogenes varicus (Müller, 1784)

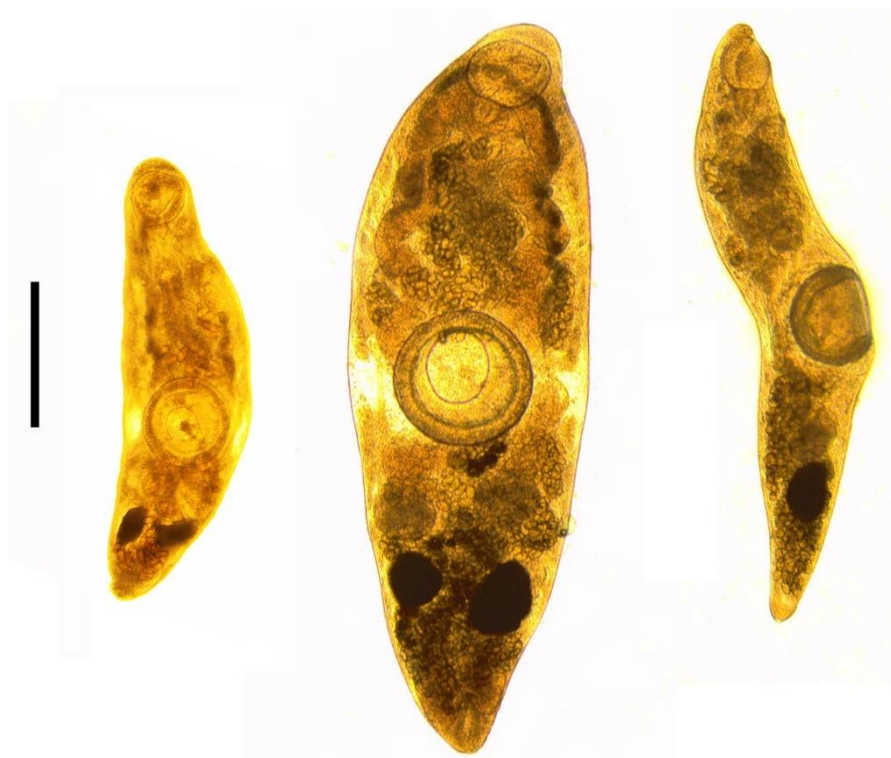
Denne trematoden var vanligst i magesekken, svelget og spiserøret (fig.14) De målte 1,2-3 mm i lengde, og 99,4 % av trematodene var eggbærende. Morfologien stemmer overens med Gibson (1996) og Odhner (1905) sin beskrivelse av arten. (fig.7)

Derogenes varicus ble funnet i 89% av pukkellaksene, med en intensitet som nådde 720 (tab.7). Det ble ikke påvist signifikant forskjell i abundans mellom kjønnene og ingen sammenheng mellom fiskens lengde, vekt og *D. varicus* abundans. To referansesekvenser av eksemplarer fra pukkellakser fra Ekso var like. De viste høyest (98,0%) identitet med en LSU rDNA sekvens av *Derogenes varicus* i GenBank (AY222189).



Figur 3. *Derogenes varicus* sin forekomst i fordøyelsestrakten hos pukkellaks, samlet materiale fra Etne, Guddal og Ekso.

* Kategorien «svelg» innbefatter her også spiserør.



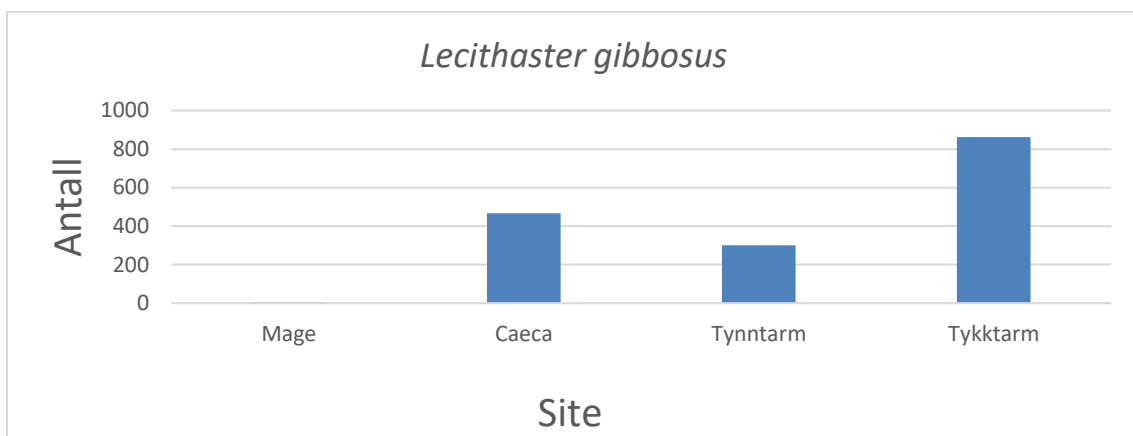
Figur 14. Eggbærende *Derogenes varicus* fra pukkellaks. A) Sett fra ryggsiden, B) Fra buksiden C) Sett fra siden med karakteristisk klaveform. Stav. 500µm

Lecithaster gibbosus (Rudolphi,1802)

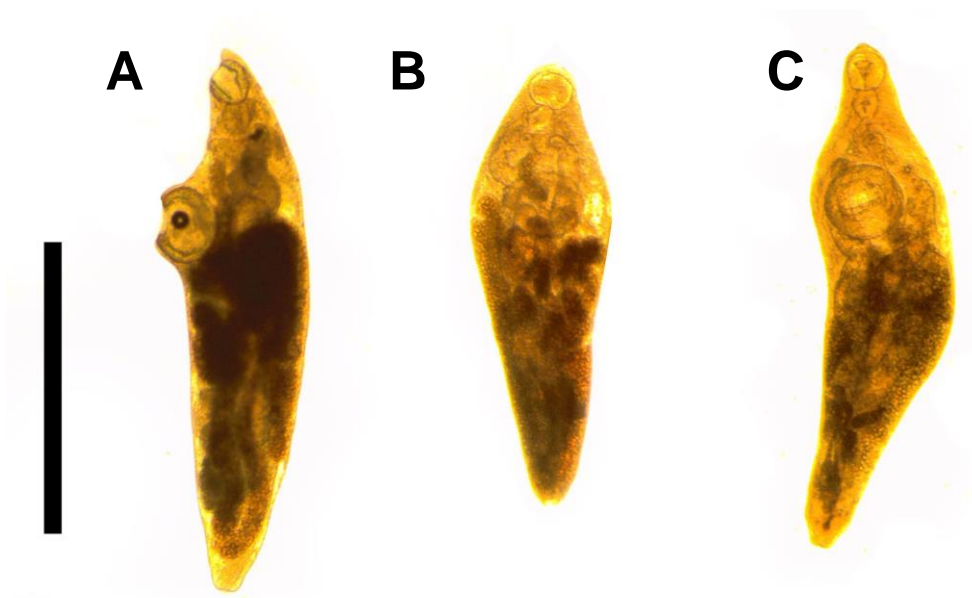
Denne trematoden hadde høyest forekomst i tykktarmen hos pukkellaksen. (fig.15).

Lecithaster gibbosus ble lengdemålt fra 0,6 mm og opptil 3 mm og 99 % av disse var eggbærende. Morforlogien var i overensstemmelse med Gibson (1996) (fig.16).

Tarmtrematoden hadde høy forekomst i pukkellaksen med høy prevalens (70%) og en intensitet på 608 (tab.7). To referansesekvenser av eksemplarer fra pukkellakser fra Etne var like. De viste høyest identitet (99,9% med en LSU rDNA sekvens av *Lecithaster gibbosus* i GenBank (AY222189) (968 bp sammenlignet).



Figur 15. *Lecithaster gibbosus* forekomst i fordøyelsestrakt hos pukkellaks, samlet materiale fra Etne, Guddal og Ekso.



Figur 15. Eggbærende *Lecithaster gibbosus*. A) sett fra siden, B) fra ryggsiden C) sett fra buksiden. Stav 1000µm

***Hemiurus communis* Odhner, 1905**

Denne trematoden ble funnet i magesekken hos tre fisk fra Etne. De målte 1-2 mm i lengde, de minste var umodne eksemplarer som forekom i to av fiskene. Totalt var 29 % eggbærende ikter og morfologien var i overensstemmelse med Gibson & Bray (1986) (fig.17).

Den totale prevalensen til *Hemiurus communis* i materialet var og nådde en intensiteten på 72 (tab.7).



Figur 17. *Hemiurus communis* fra Etne. A) Sett fra siden med utstrakt escoma, B) Sett fra siden med escoma er halvveis tilbaketrukket, C) Sett fra ryggsiden, med escoma nesten inndradd. Stav. 500µm

***Hemiurus luehei*, Odhner 1905.**

Det ble totalt funnet to trematoder av arten *Hemiurus luehei* i hver sin pukkellaks fra Etne. Begge var eggbærende og hadde en lengde på henholdsvis 2,0 og 2,2 mm.

Gibson og Bray (1986) sin beskrivelse av morfologien stemmer godt overens med disse trematodene som ble funnet i magen hos de to pukkellaksene. (fig.18 a,b).

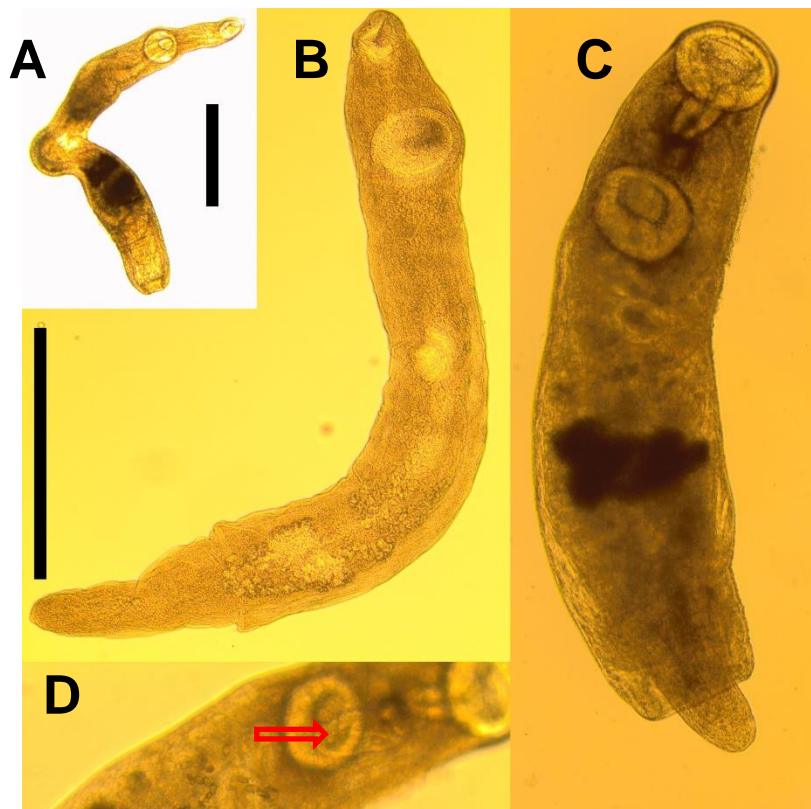
Prevalens og intensitet av *Hemiurus luehei* var lav(tab.7).

***Brachyphallus crenatus* (Rudolphi, 1802)**

Det ble funnet to trematoder av *Brachyphallus crenatus* i magesekken hos én pukcellaks fra Etne. Disse hadde en lengde på 1,1 mm og 1,5 mm og begge var eggbærende trematoder.

Morfologien stemmer godt med beskrivelsen hos Gibson & Bray (1986). (fig.18 c,d).

Prevalensen og intensitet hos *Brachyphallus crenatus* var svært lave (tab.7).



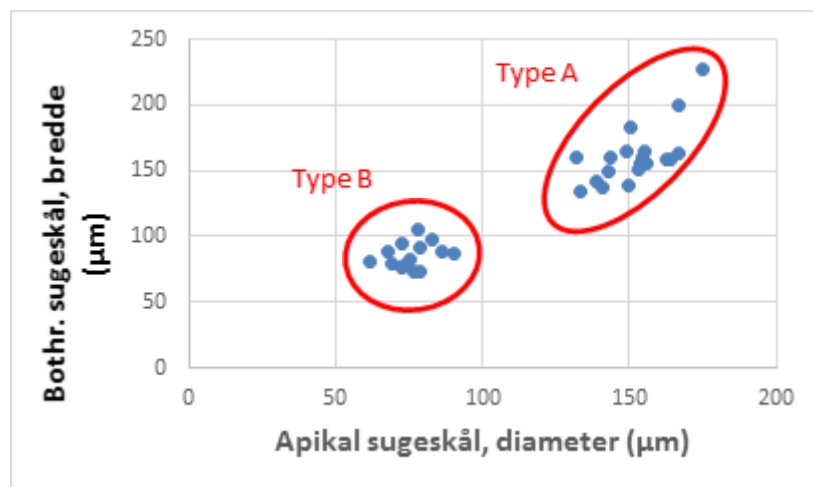
Figur 18. Trematoder fra slekten Hemiuridae, alle fra Etne. A) *Hemiurus luehei* med escoma dradd helt inn i soma, B) Eggbærende *Hemiurus luehei* med escoma ute, C) Ventralt vendt *Brachyphallus crenatus* med sin escoma halvveis dradd inn, D) et forstørret utsnitt av *Branchyphallus crenatus*, hvor seminal vesikkelen (pil), dorsal-anteriort for ventral sugeskål, er synlig. Denne karakteren er viktig for identifikasjon av *B.crenatus*. Stav. 500µm

Cestoder:

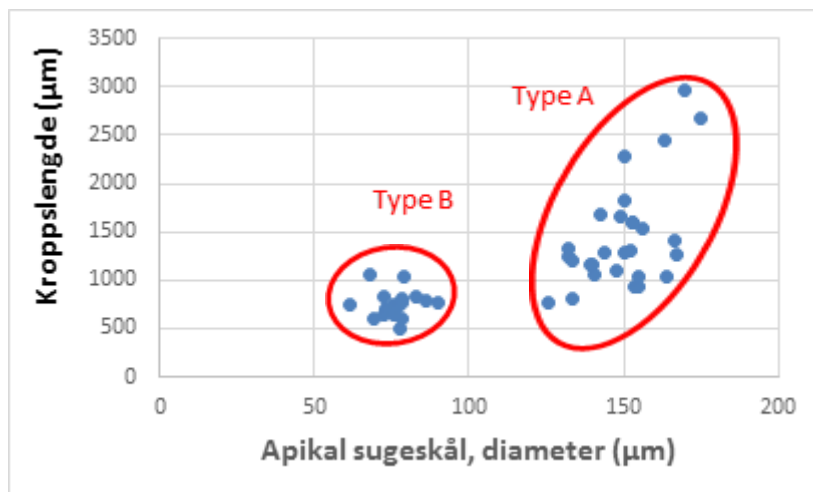
Scolex pleuronectis (Müller, 1788)

Morfologisk variasjon

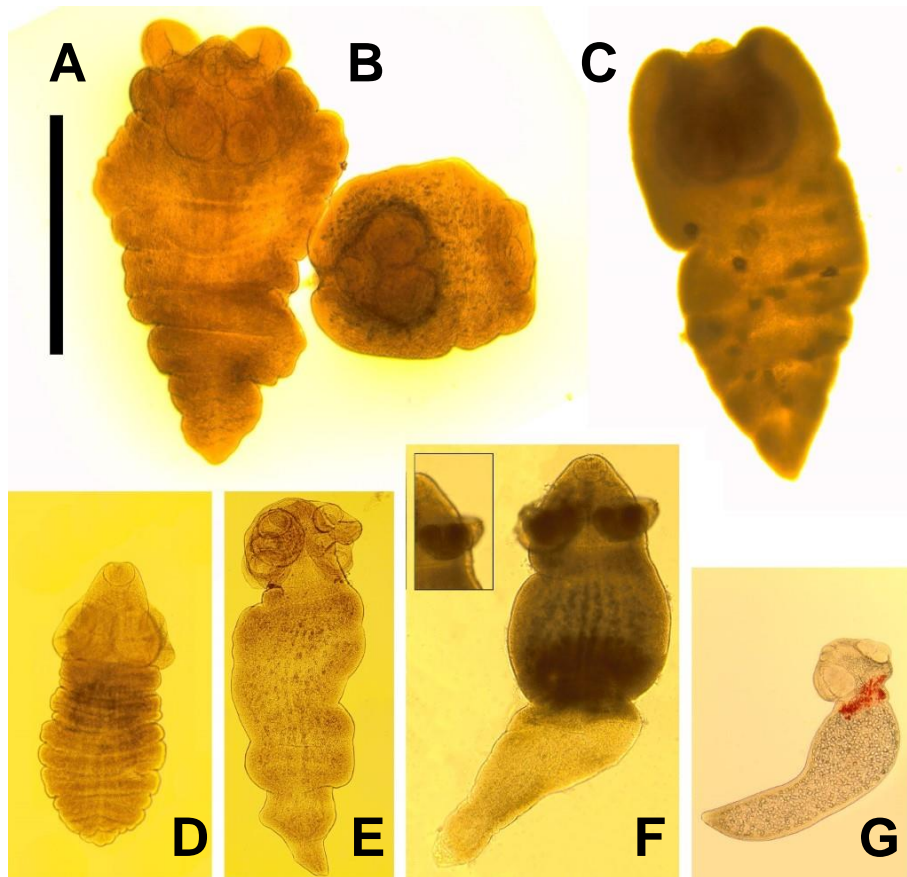
Navnet *Scolex pleuronectis* brukes som en fellesbetegnelse på frie cestode plerocercoider i tarmen på marine fisk, som har en apikal sugeskål, og fire bothridier med en fremre sugeskål og en bakre sugeskål/vinge. Plerocercoidene i pukkellaks utgjorde to hovedtyper, en større (1-3 mm) kalt type «A» og en liten referert til som «B» (vanligvis 0,4 < 1 mm). De skiltes i tillegg av diameteren på den apikale og de bothridiale sugeskålene (fig. 19 & 20).



Figur 19. *Scolex pleuronectis* fra tarm hos pukkellaks. Diameteren til de apikale sugeskålene er plottet mot bredden til den fremste bothridiale sugeskålen. Plottet antyder forekomst av to grupper av plerocercoider, som refereres til som "type A" og "type" B.



Figur 20. *Scolex pleuronectis* fra tarm hos pukkellaks. Diameteren til de apikale sugeskålene er plottet mot plerocercoidens lengde (µm). Plottet underbygger forekomst av to grupper av plerocercoider, «type A» og «type B».



Figur 21. *Scolex pleuronectis* "type A" fra tarm hos pukkellaks. A) Minste eksemplar av plerocercoid, B) Viser en vanlig morfologi med inndradd scolex, C) Viser et lite eksemplar av *S. pleuronectis* "A". A), D) og E) viser eksemplarer med bothridiene (sugevingene) ute, E) en uvanlig morfologisk type, ble funnet i tre fisk, F) En levende liten type «A» plerocercoid fra lodde i Barentshavet som viser en tydelig rød pigmentering bak scolex. 28 rDNA sekvenser fra plerocercoider avbildet i A), B), C), E) og F) var identiske. D) ble ikke sekvenser. Stav. 1000 μ m (A-E).

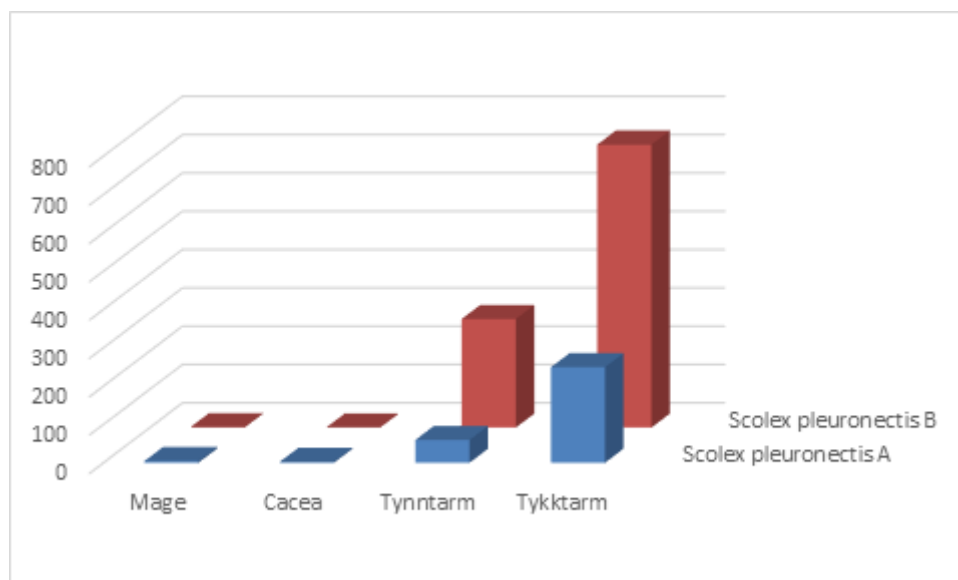


Figur 22. *Scolex pleuronectis* "type B" fra tarm hos pukkellaks. A) Vanligste morfologi å finne; "eggeaktige" med inndradd scolex, B) Scolex med bothridiene på vei til å komme ut, C) Eksemplarer med bothridiene ute. Det ble oppnådd delvis 28S sekvens fra to stk eggeaktige plerocercoider, inkludert plerocercoiden i A).

Sekvensbasert identifisering:

Det ble oppnådd delvise sekvenser (LSU rDNA) av 9 type «A» og to type «B» plerocercoider (Fig. 21 & 22). Alle type «A» sekvensene var identiske (100%, 1200 nt sammenlignet), og også med en sekvens den voksne tetraphylliden *Clistobothrium* sp. fra håbrann (JF 436969) i GenBank. *Scolex pleuronectis* type «B» sekvensen var identisk med en sekvens (MH688721) fra '*Phyllobothrium*' *piriei*, en tetraphyllid bendelorm fra gjøkskate (*Leucoraja naevus*) i Nordsjøen (990 nt sammenlignet).

Begge typene hadde høyest forekomst i baktarmen, som hadde 78 og 96% respektivt av disse plerocercoidene (fig.23).



Figur 23. Antall type "A" og "B" *Scolex pleuronectis* plerocercoider funnet i forskjellige deler av fordøyelsestrakten hos pukkellaks. Tykktarm hadde høyest forekomst av begge typer.

Forekomst av *Scolex pleuronectis* type A og B:

Disse forekom i 60% og 40% av pukkellaksene med en gjennomsnittlig intensitet på representativt 6,8 og 31,5. Samlet *Scolex pleuronectis* prevalens var 78%, gjennomsnittlig abundanse 16,7 (SD 58,0), snittintensiteten 21,5 og maksimal intensitet 461.

forskjellig for hanner og hunner (MW, $Z=0,30$), men viste en signifikant men svak positiv korrelasjon mot fiskelengde ($R_s=0,28$, $P=0,01$).

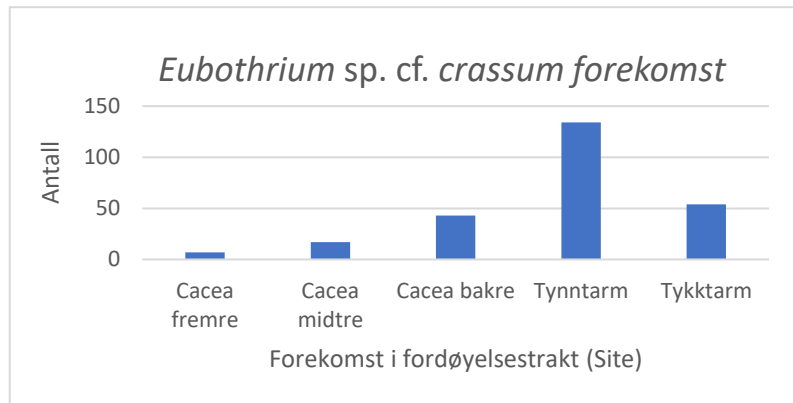
Eubothrium sp. cf. crassum

Det ble gjort funn av *Eubothrium sp.* juveniler i pukkellaksens fordøyelsestrakt, med høyest forekomst i tynntarm (fig.25).

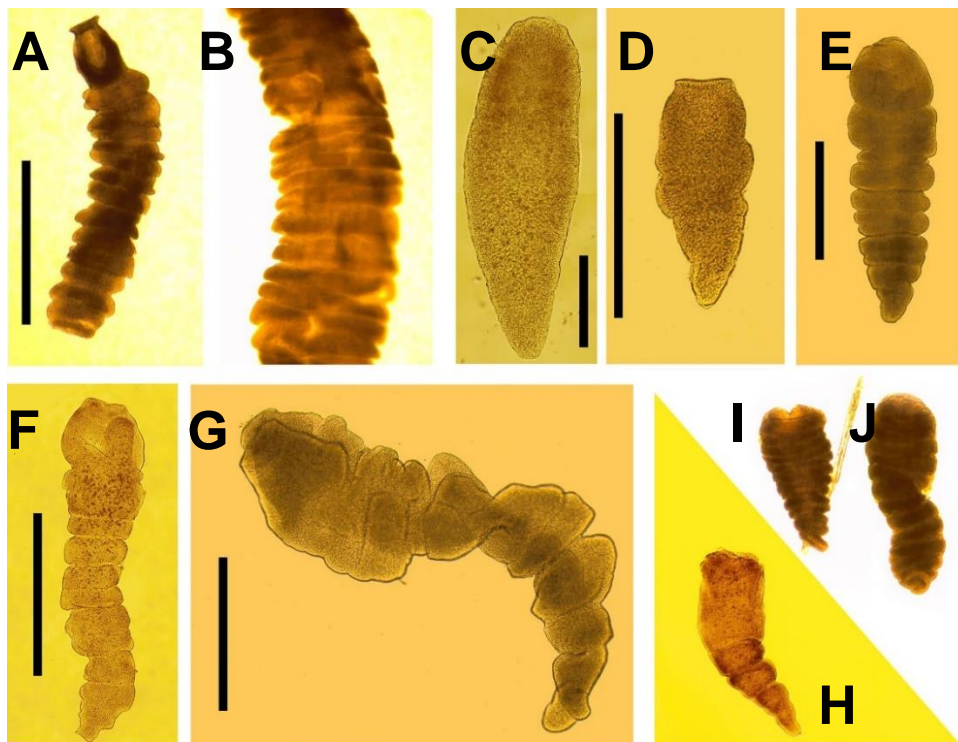
Eubothrium sp. hos pukkellaksen hadde en prevalens på 34%.

Plerocercoid larvene målte fra 0,6 – 5 mm.

Under parasittundersøkelsen ble disse bendelormene delt inn i *Eubothrium sp.* og *Bothriocephalus*- lignende etter morfologi. Det ble foretatt molekylær analyse av de to grupperingene, med til sammen 8 DNA- tester med LSU ga det identisk sekvens for *Eubothrium crassum* med 100% match med KR780880 i genbank. Figur 26 viser morfologi og et utvalg av bendelorm som ble molekylært identifiser som *E. crassum*.



Figur 24. *Eubothrium sp. cf. crassum* plerocercoid forekomst i fordøyelsestrakt hos pukkellaks



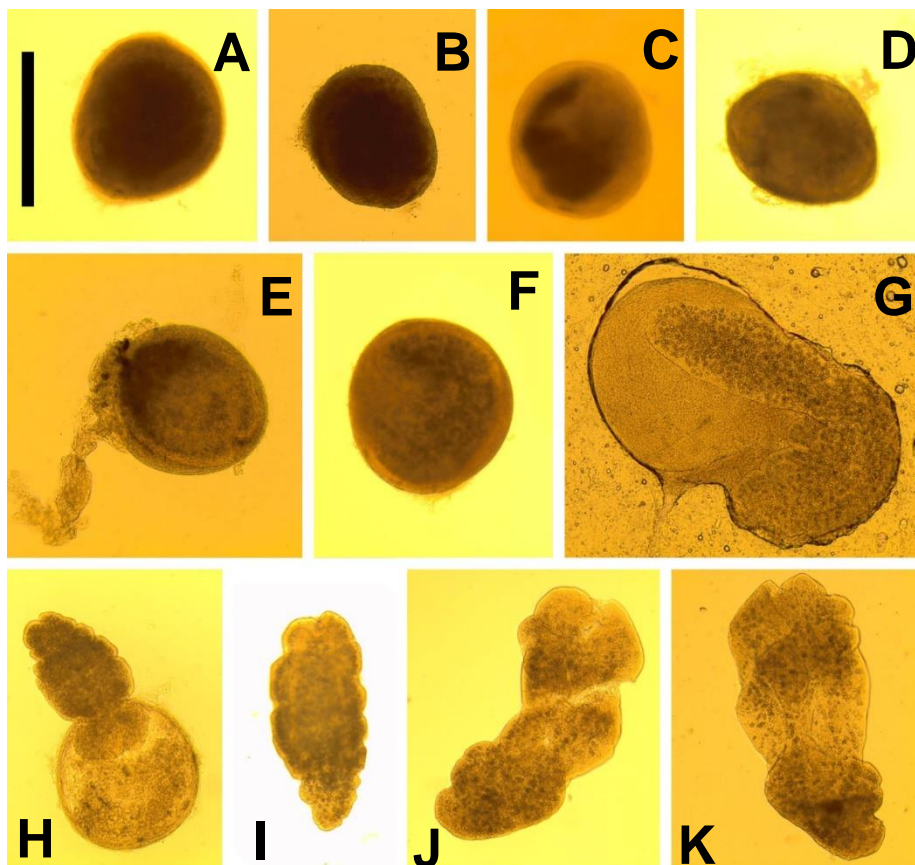
Figur 25. *Eubothrium sp. cf. crassum* juvenile.

A) Tydelig *Eubothrium sp.* morfologi med strobila og hette, Stav. 1000µm, B) Posteriale del av strobila av en «stor» *Eubothrium sp.* (>10 mm), C) Juvenile funnet i baktarm, stav 200µm, D) Plerocercoid fra tynntarm, Stav. 500µm, E) *Bothriocephalus* «lignende» fra tynntarm, stav 500µm, F) *Bothriocephalus* «lignende» fra baktarm, stav 1000µm, G) Et deformert eksemplar av *bothriocephalus* «lignende» individ, stav. 500µm, H) Et lite eksemplar fra tynntarm, stav som i A), I) & J) er to små eksemplarer med inndratt forende, stav som i A).

Diphyllobothrium sp.

Det ble gjort funn av kapsler i mage og tarmveggen hos pukkellaksene fra de tre elvene. Disse inneholdt små flate bendelormlarver, med en fure i fremenden, typisk for mange *Diphyllobothrium* sp. plerocercoider. Molekylær identifikasjon (LSU rDNA sekvenser) av to eksemplarer viste høyest identitet (98,7%, 1044 bp sammenlignet) med *Diphyllobothrium* sp. fra sjøløver i Stillehavet (KY552829).

Kapslene var typisk litt ovale eller svakt triangulære (fig. 26), og målte 0,46-0,54 (snitt 0,50) mm i lengde og 0,38-0,48 (0,43) mm i minste diameter ($n=10$). Utpressede plerocercoider målte 0,53-1,66 (0,99) mm i lengde og 0,36-0,94 (0,38) mm i største bredde. *Diphyllobothrium* sp. plerocercoidene hadde en lav prevalens og intensitet på 3 (tab.7).

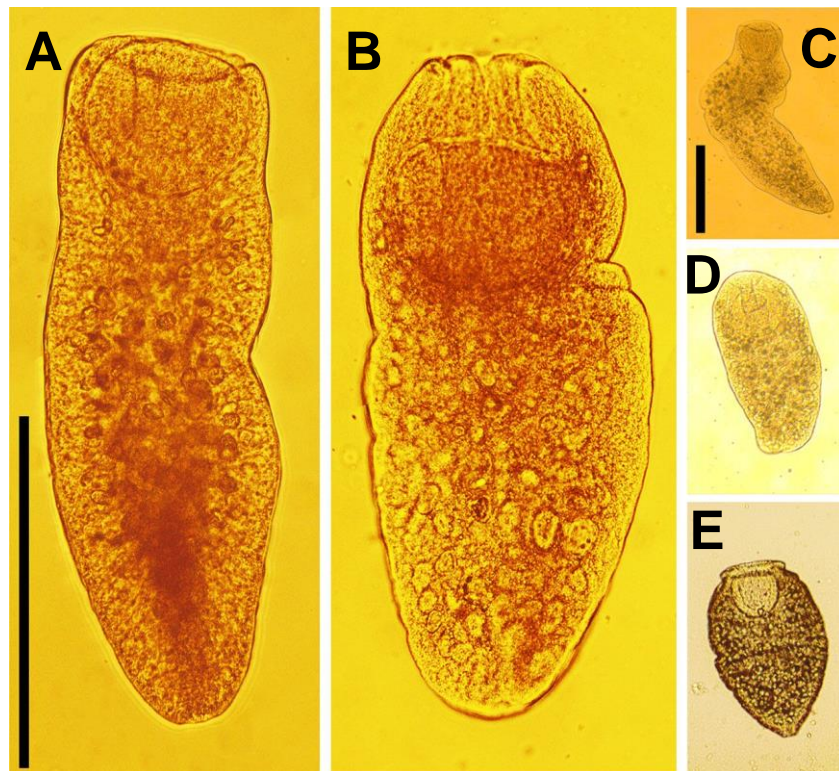


Figur 26. *Diphyllobothrium* sp. plerocercoid. A) til D) Hele cyster funnet i magevegg hos verten E) & F) Ble gjort en svak squeezing av cystene, der plerocercoid larven med kalklegemer kommer til syne, G) & H) enda mer trykk er lagt til squeezingen, plerocercoid larvene er på vei ut av cystene, I), J) & K) er eksemplarer på frie plerocercoid larver med godt synlige kalklegemer. Stav 500 μ m.

***Scolex bothriosimplex* Reimer, 1970**

Cestode plerocercoid larver identifisert som *Scolex bothriosimplex* ble funnet i tarmen hos seks pukkellaks fra Etne. De ble identifisert etter Reimer (1970)

De målte 390-540 μm i lengde, 120-170 i bredde, og har en stor sugeskålaktig struktur i enden som er 80-100 μm lang og har en diameter på 88-124 μm (fig. 27). Parasitten hadde en svært lav forekomst av prevalens og intensitet (tab.7).

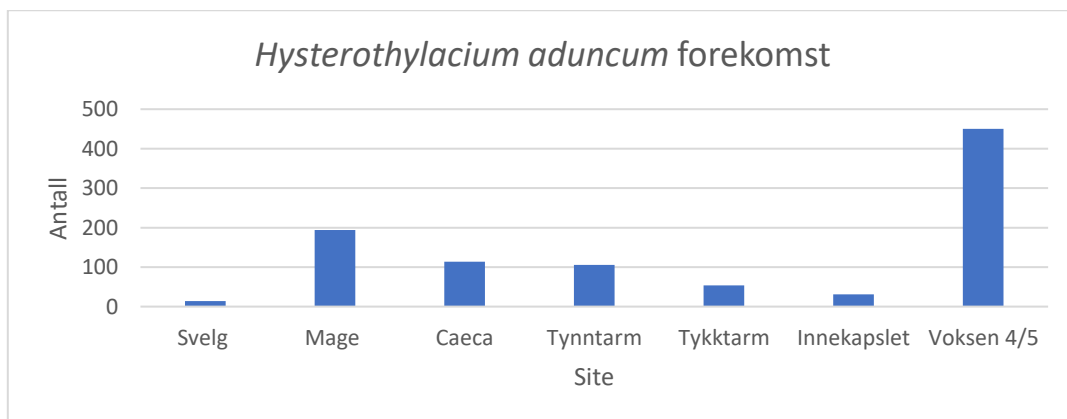


Figur 27.. *Scolex bothriosimplex* fra tarmen på pukkellaks (A-D) og lodde (E). Hvert eksemplar med godt synlig med stor sugeskål og små kalklegemer. A), C) & E) har utstrakte sugeskåler, B) & D) med sugeskålene trukket innover. Stav. 200 μ for A & B, og 200 μm for C, D & E, levende eksemplarer fra lodde, for sammenligning.

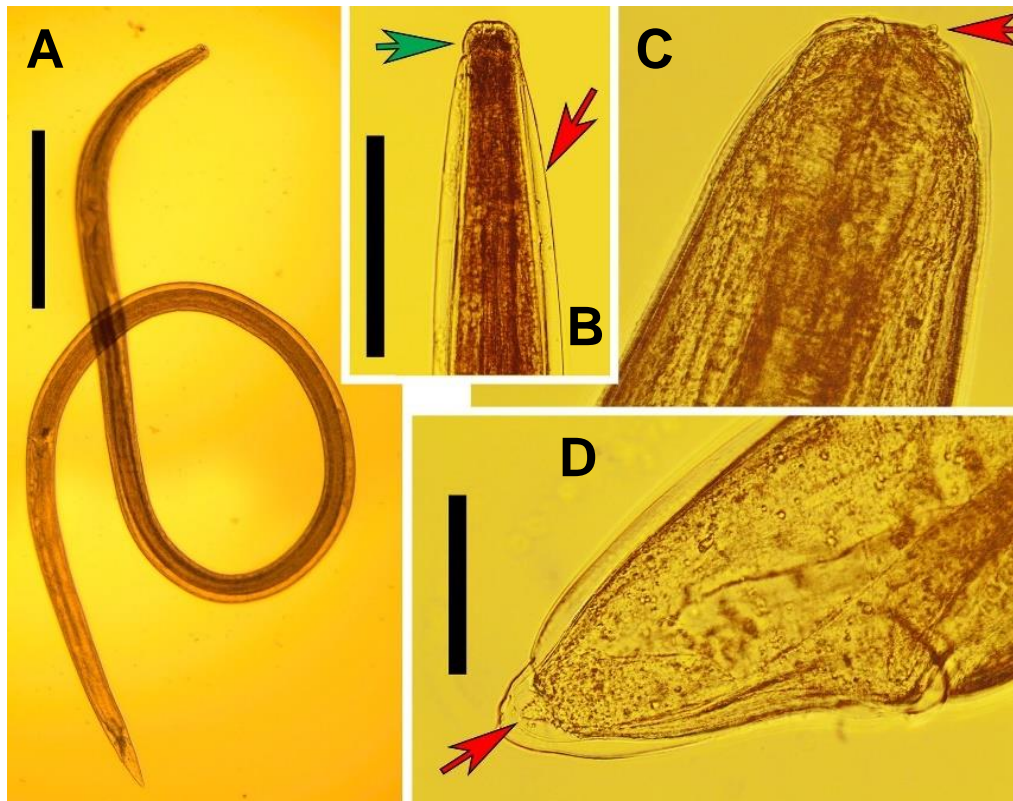
Nematoder

Hysterothylacium aduncum (Rudolphi 1802)

Denne nematoden var mest vanlig å finne som frie voksne i fordøyelsestrakten, og kun få ble funnet som innkapslet på innvoller hos pukkellaksen (fig.28). *H.aduncum* larver målte fra 8mm til 12 mm og de voksne målte fra 11-22 mm. Morfologien stemmer med Kjøie (1993) & Berland (1961) sin beskrivelse av nematoden *H.aduncum* (Fig. 29). De innkapslete nematodene hadde en prevalens på 25%, og de lumenale en prevalens på 79%, Totalt prevalens telt med innkapslete og lumenale var prevalensen 83%. Intensiteten var henholdsvis 4 hos de innekapselfede og 53 hos lumenale (tab.7).



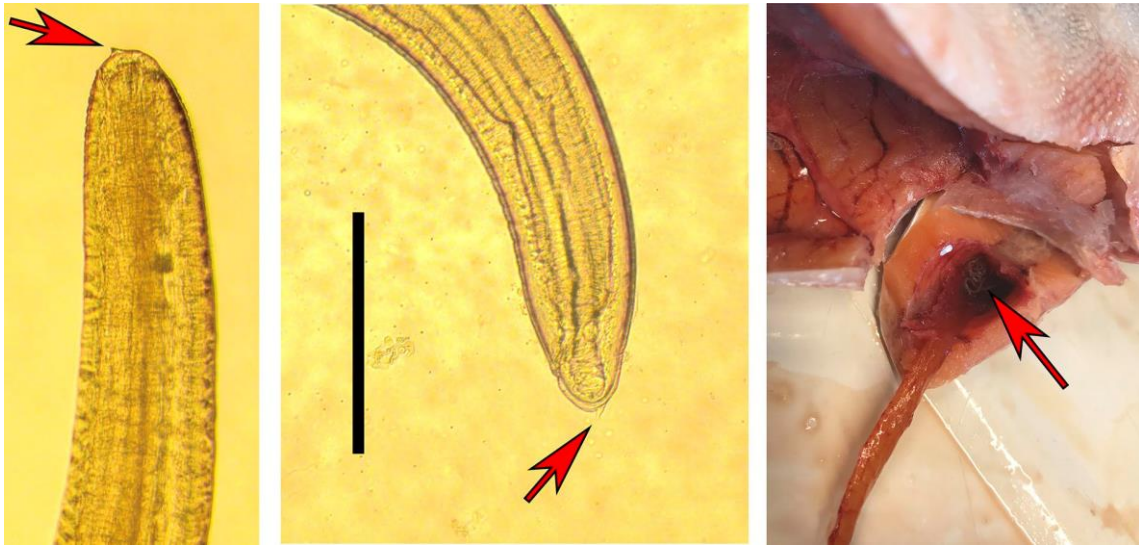
Figur 28.. Fordeling av nematoden *Hysterothylacium aduncum* i fordøyelsestrakten hos pukkellaks, samlet materiale fra Etne, Guddal og Ekso



Figur 29. *Hysterothylacium aduncum*. A) Voksen (men ikke modent) eksemplar funnet fritt i magesekken, stav. 1000µm, B) Anterior del av voksen nematode med grønn pil som viser til lepper og rød pil som viser kutikulær vinge (ala) stav. 500µm, C) Larve (L3), anteriore delen, med pil som viser boretann, D) Larve, posterior del med den karakteristiske piggete «kaktushalen» til L4 synlig under larvens kutikula stav 1000µm

Anisaki simplex (Rudolphi, 1809)

Alle *A. simplex* larvene (L3) ble funnet i pukkellaksene var innkapslet i og på viscera, ingen ble observert ved filetering i muskulaturen. Vanligste site var i bukhule på viscera. Larvene ble som oftest funnet kveilet sammen i spiralform. Morfologien stemmer overens med Smith & Wootten (1978) sin beskrivelse av *Anisakis simplex sensu lato* larver (fig. 30) Forekomsten hos pukkellaksen i det totale materialet, hadde en middelsverdi av prevalens og intensitet (tab.7).

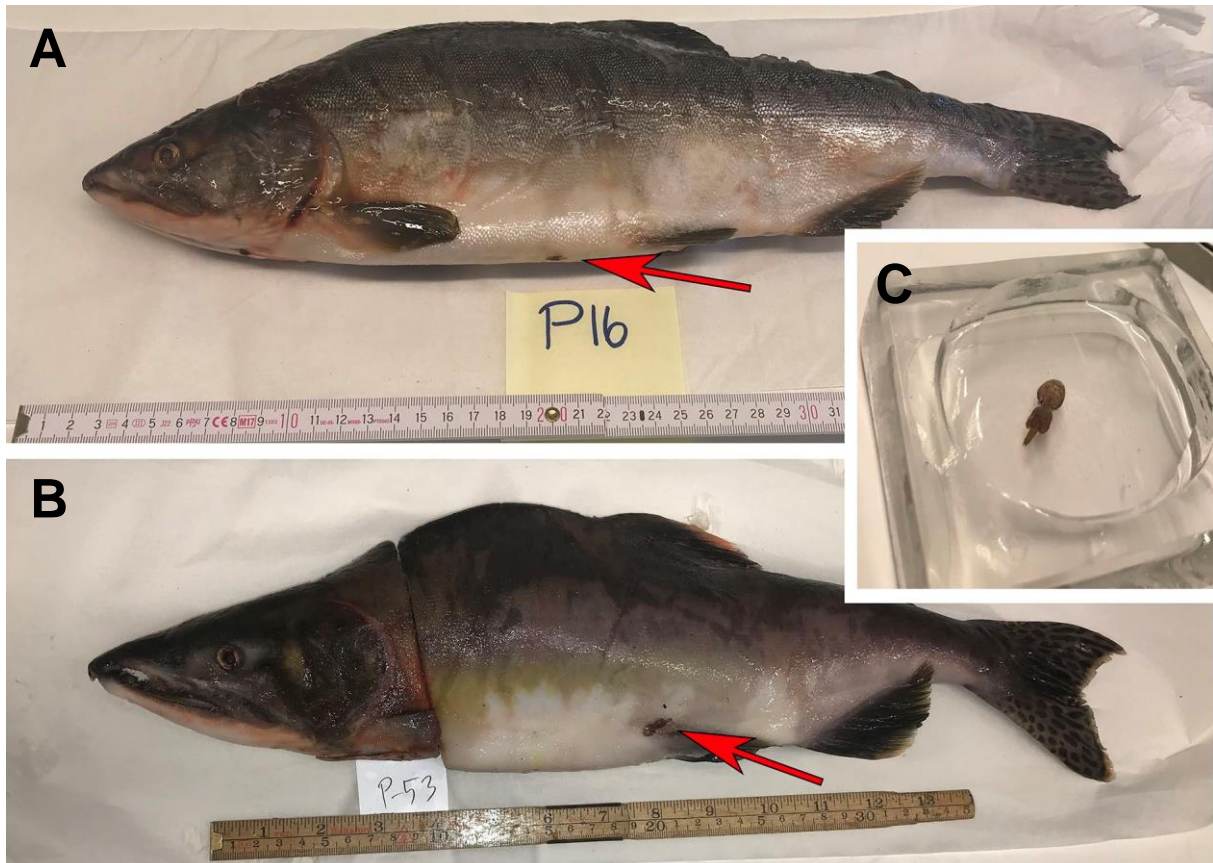


Figur 30. *Anisakis simplex*. A) Pilen viser en tydelig boretann på den kurvede anteriore delen av nematoden, foran ekskresjonsåpningen, B) Pilen peker på den karakteristiske "piggen" på den avrundede posteriore enden, C) En klynge av *A. simplex* samlet på baktarm nær gattåpning. Stav. 1000µm felles for A, B & C.

Copepoder

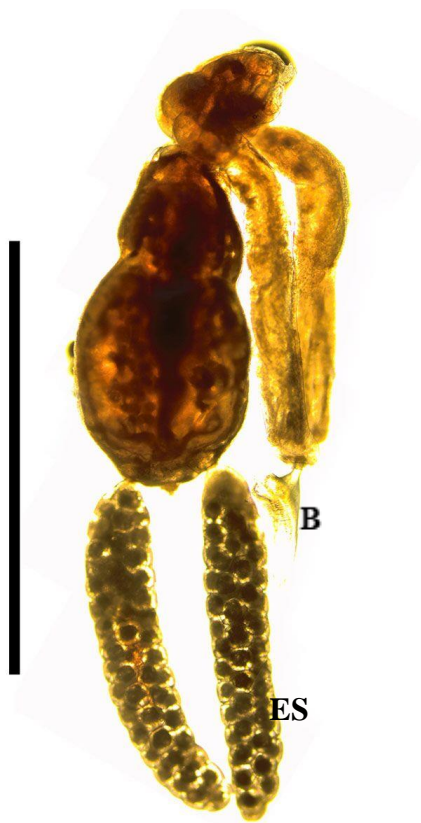
Lepeophtheirus salmonis (Krøyer, 1838)

Under parasittundersøkelsen ble det gjort funn av to voksne hunnlus uten eggstrenger på to pukkellaks fra Etne. De befant seg på fiskens buk ved disseksjon (fig.31).



Figur 31. Lakselus (*Lepeophtheirus salmonis*). A) Gyteklar hunn-fisk med kjønnsmoden lakselus uten eggstrenger med site under buk, B) Gyteklar hann-fisk med kjønnsmoden lakselus uten eggstrenger, site under buk, C) Kjønnsmoden lakselus uten eggstrenger.

***Salmincola salmoneus* (Linnaeus, 1758)**



I to pukcellaks fra Etne ble det til sammen funnet 46 stykk *Salmincola salmoneus* hunner på gjellene. De fleste satt festet til primærfilamentene, hovedsakelig basalt.

Total lengden uten eggsekker nådde 12 mm, selve kroppen utenom maxillene og bulla målte opp til 6,5 mm. Av disse hunnene var 8,7% eggbærende. Denne ferskvannsektoparasitten ble artsbestemt i henhold til Kabata's (1979, 1992) beskrivelse. Prevalensen og intensitet var lav (fig.7)

Figur 32. *Salmincola salmoneus*. Voksen kjønnsmoden gjellelus med egg i eggsekkene, ES, B) Bulla, en struktur som copepoden festes til verten med. Stav 5mm.

3.2 Mikroparasitter

Spironucleus spp.

Totalt 43 midttarmprøver fra pukkellaks (Etne) ble molekylært testet med PCR for infeksjoner med tarmflagellater fra slekten *Spironucleus*.

Alle prøvene fra pukkellaksene var PCR negative, men kontrollprøven fra ørret var alltid positiv (*Spironucleus barkhanus*).

Parvicapsula pseudobranchicola Karlsbakk et al. 2002

Totalt 30 pseudobranchieprøver fra pukkellaks (Etne, $n=20$) og Ekso, $n= 10$) ble PCR-testet. 4 av 30 prøver var PCR positive for *P. pseudobranchicola*, derav 1 positiv prøve fra pukkellaks fra Etne og 3 positive prøver fra Ekso (FET, $P<0,10$). Sekvenser bekreftet identiteten.

Det ble foretatt systematisk mikroskopering (100-400 x) for tilstedeværelse av sporer av *P. pseudobranchicola* på fargede utstryk. Det ble ikke gjort funn av sporer i preparatene, bortsett fra den positive kontrollprøven (Fra oppdrettslaks i Nordland (EK)) som ble benyttet ved identifisering under mikroskopering.

3.3 Virus

40 pukkellaks fra Etne ble tatt prøver av og sendt inn til Pharmaq analytic for qPCR-analyse av virusene; ILAV, SAV, IPNV, PMCV, IHNV. I tillegg kjørte HI egen molekylæranalyse for PRV (Etne, $n= 40$). Alle prøvene ga negative resultater for påvisning av virus.

3.4 Gjelleagens

Gjelleprøver av pukkellaks fra Etne ($n=43$) ble analysert for utvalgte gjelleagens, knyttet til oppdrettslaks om høsten. Dette ble gjort i regi av A.S Madhun ved HI.

Tabell 8. Pukkellaks fra Etne ($n= 43$), prevalens og Ct-verdier for utvalgte gjelleagens, vanlig forekommende hos oppdrettslaks i Hordaland

Parasitt	Type/Gruppe	Sykdom ^a	Ant pos	P %	Ct snitt	Ct min	Ct maks
<i>Candidatus Branchimonas Cysticola</i>	Intracellulær bakterie	Epiteliocystis	1	2	21,9	21,9	21,9
<i>Ichtyobodo spp.</i>	Flagellat	Costiose	39 ^b	91 ^c	21,6 ^d	9,1	38,0
<i>Desmozoon lepeophtherii</i>	Mikrosporidie	PGI	26	60	29,4	22,4	35,7

^a. Sykdom assosiert med, hos oppdrettslaks^b, 35 med Ct<35.^c, 81, hvis kun Ct<35.^d, 19,9, hvis kun Ct <35

3.4 Sammenligninger av elver

Tabell 9. Oversikt over prevalens og abundanse hos pukkelaks fra tre lokaliteter på Vestlandet

Agens	Ene (n=44)				Guddal (n=12)				Ekso (n=24)			
	P %	Abundanse Snitt	SD	Int. Maks	P %	Abundanse Snitt	SD	Int. Maks	P %	Abundanse Snitt	SD	Int. Maks
Mykozoa												
<i>Parvicapsula pseudobranchicola</i>	5 ^a	-	-	-	-	-	-	-	30 ^b	-	-	-
Trematoda												
<i>Cryptocotyle lingua</i>	45	43,1	114,8	446	92	242,3	400,2	1095	79	235,7	443,7	1221
<i>Apotemon gracilis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0,2	1
<i>Derogenes varicus</i>	86	40,2	112,2	720	100	43,2	73	255	88	12,3	15,9	53
<i>Hemirius luehei</i>	5	<0,1	0,2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hemirius communis</i>	7	2	11	72	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Brachyphallus crenatus</i>	2	<0,1	0,3	2	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lecithaster gibbosus</i>	77	34,1	98,8	608	58	3,6	4,5	13	63	4,6	9,2	32
Cestoda												
<i>Scolex pleuronectis A</i>	73	6,3	8,9	43	25	0,8	1,4	3	54	1,5	2,7	11
<i>Scolex pleuronectis B</i>	34	7,9	36,6	240	17	0,8	1,9	6	63	27,3	93,4	459
<i>Eubothrium sp. cf. crassum</i>	41	4,7	13,9	87	17	0,8	2,6	9	29	1,8	4,1	16
<i>Diphyllobothrium sp.</i>	16	0,3	0,7	3	8	<0,1	0,3	1	17	0,2	0,4	1
<i>Scolex bathriosisimplex</i>	11	0,1	0,4	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Nematoda												
<i>Hysterathylacium aduncum (L3)</i>	20	0,3	0,7	3	42	0,5	0,7	2	25	0,4	0,9	4
<i>Hysterathylacium aduncum (Lum)</i>	80	7,2	9,9	53	75	3,1	3,9	13	79	4,8	4,8	14
<i>Anisakis simplex</i>	25	0,6	1,9	12	42	0,6	0,8	2	17	0,2	0,5	2
Copepoda												
<i>Lepeophtheirus salmonis</i>	5	<0,1	0,2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salmincola salmoneus</i>	5	1	5,6	36	0	0	0	0	0	0	0	0

Sammenligning av prevalens og abundanse

Tabell 10. Resultat fra statistisk sammenligning av prevalens og abundans til de alminnelige makroparasittene i pukkellaks i de tre elvene Etne, Guddal og Ekso. Prevalens ble testet med KT, Kontingenstabell-tester, og abundans med KW, Kruskal-Wallis test.

Agens <i>n</i> =80	Prevalens (KT, χ^2_{2df})	Abundans (KW) H_{2df} sannsynligheter (p)
<i>Cryptocotyle lingua</i> (M)	12,7, p <0,1	13,5 p <0,01
<i>Derogenes varicus</i>	1,8, p=0,40 ^a	3,2 p =0,20
<i>Lecithaster gibbosus</i>	2,5, p=0,28	5,4 p = 0,07
<i>Scolex pleuronectis</i> A (Pl)	9,4, p<0,01	13,6 p =<0,01
<i>Scolex pleuronectis</i> B (Pl)	8,4, p<0,02	9,8 p =<0,01
<i>Eubothrium</i> sp.cf. <i>crassum</i> (Juv)	2,8, p=0,25	3,1 p =0,21
<i>Diphyllobothrium</i> sp. (Pl)	0,5, p=0,78 ^a	0,5 p =0,77
<i>Scolex bothriosimplex</i> (Pl)	4,4, p=0,11 ^a	4,3 p =0,12
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (L3)	2,3, p= 0,32	1,9 p =0,38
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (Lum)	0,1, p=0,94	2,1 p =0,34
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (Tot.)	0,6, p=0,76	1,6 P=0,46
<i>Anisakis simplex</i> (L3)	2,7 P= 0,26	2,7 P= 0,26

^aTest hvor det forekom lave forventede verdier, der resultatet ble verifisert med Fisher's Eksakt tester.

M, metacercarielarver; Juv., juveniler, det vil si plerocercoider og små umodne bendelorm; Pl, plerocercoid stadium, L3, larvestadium, innekapslede nematoder i viscera. L4/L5, det vil si frie inni tarmtrakten. Tot, total; *Hysterothylacium aduncum* L3 og Lum slått sammen.

Det var signifikant lavere *C. lingua* abundans i Etne enn i Ekso (P<0,05) og Guddal (P<0,01) (tab.10& 11). Det var også signifikante forskjeller i *S. pleuronectis* abundansen, type A hadde signifikant høyere abundans i Etne enn de andre elvene (0,01<p<0,03), mens type B hadde høyere i Ekso enn i Guddal (P<0,05)

Sammenligning av kjønn – og fiskestørrelse

Abundansen til de alminneligste parasittene ble sammenlignet for hanner og hunner, på basis av alle fiskene (tab.11).

Kun lumenale *Hysterothylacium aduncum* viste abundansforskjell, abundansen var høyere i hunner. Ut i fra dette ble det i tillegg testet for kjønnsforskjeller hos fisk kun fra Etne, uten signifikante forskjeller.

Tabell 11. Kjønnsforskjeller i parasittabundans hos pukkellaks fra Hordaland. Gjennomsnittlig abundans for hanner (n=58) og hunner (n=22), og resultater fra Mann-Whitney tester for kjønnsforskjeller i abundans. Samlet datamateriale er fra Etne, Ekso og Guddal. Signifikante sifre er markert med rødt.

Parasittart	Gjennomsnittlig abundans		Z	p-verdi
	Hanner	Hunner		
<i>Cryptocotyle lingua</i> (M)	127,3	139,9	0,86	0,39£
<i>Derogenes varicus</i>	27,9	43,5	1,34	0,18
<i>Lecithaster gibbosus</i>	24,8	9,9	-1,17	0,24
<i>Eubothrium</i> sp. cf. <i>crassum</i> (Juv)	3,6	2,2	0,26	0,80
<i>Scolex pleuronectis</i> A (Pl)	3,9	4,4	0,87	0,39£
<i>Scolex pleuronectis</i> B (Pl)	16,4	2,5	0,60	0,55£
<i>Scolex bothriosimplex</i> (Pl)	0,09	0,05	0,39	0,70
<i>Diphyllobothrium</i> sp. (Pl)	0,2	0,2	-0,37	0,71
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (L3)	0,4	0,3	-0,15	0,88
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (Lum)	4,8	8,6	-1,97	<0,05
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (Tot)	5,2	8,9	-1,92	0,06
<i>Anisakis simplex</i> (L3)	0,4	0,8	0,58	0,56

£, Disse parasittene viste signifikante abundansforskjeller mellom elver, og ble derfor også testet separat på Etnedatene ($P >> 0,05$). M, metacercarielarver; Juv., juveniler, det vil si plerocercoider og små umodne bendelorm; Pl, plerocercoid stadium, L4/L5, lumenale, det vil si frie inni tarmtrakten; L3, larvestadium 3, innekapslede nematoder i innvollene. Tot, total; *Hysterothylacium aduncum* L3 og Lum slått sammen.

Sammenhenger mellom fiskestørrelse og parasittabundans ble undersøkt på basis av vekt, da lengden kunne påvirkes noe av at hannene endrer form (e.g. hodelengde) ved kjønnsmodning, og graden av utviklingen av disse sekundære kjønns karakterene varierte.

Ingen av parasittene viste signifikante korrelasjoner med vertsstørrelse (tab.12).

Tabell 12. Sammen mellom abundansen til de vanligste parasittene og pukkelaksens vekt, kjønnsvis. Samlede data fra Etne, Ekso og Guddal. Spearman rang korrelasjons-koeffisienter (r_s)

Parasitter	Hanner (N=58)		Hunner (N=22)	
	r_s	P-verdi	r_s	P-verdi
<i>Cryptocotyle lingua</i> (M)	-0,01	0,92	-0,17	0,45
<i>Derogenes varicus</i>	0,11	0,40	0,17	0,44
<i>Lecithaster gibbosus</i>	-0,11	0,42	0,31	0,15
<i>Eubothrium</i> sp. cf. <i>crassum</i> (Juv)	-0,24	0,08	-0,08	0,71
<i>Scolex pleuronectis</i> A (Pl)	0,04	0,78	0,10	0,66
<i>Scolex pleuronectis</i> B (Pl)	0,26	>0,05	0,30	0,17
<i>Scolex bothriosimplex</i> (Pl)	0,04	0,75	-0,05	0,82
<i>Diphyllobothrium</i> sp. (Pl)	0,11	0,39	-0,33	0,13
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (L3)	-0,06	0,64	-0,02	0,93
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (Lum)	0,16	0,23	0,17	0,44
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (Tot)	0,14	0,28	0,15	0,50
<i>Anisakis simplex</i> (L3)	-0,20	0,13	0,34	0,12

M, metacercarielarver; Juv, juveniler, det vil si plerocercoider og små umodne bendelorm; Pl, plerocercoid stadium, Lum, lumenale, det vil si frie inni tarmtrakten. L3, larvestadium 3, innekapslede nematoder i innvollene. Tot, total; *Hysterothylacium aduncum* L3 og Lum slått sammen.

Betydning av ankomsttid til elv

Dette aspektet ble undersøkt ved å korrelere parasittabundansen med ankomsttid (dag) til elv, i Etne og samlet for Hardanger (Etne & Guddal). Alle fiskene fra Ekso var tatt samme dag i et annet fjordsystem, så de kunne ikke brukes i analysene.

Tabell 13. Abundanse og ankomsttidspunkt for Etne og Hardanger (Etne & Guddal). Positive r_s verdier betyr økt abundanse med tid, negative betyr nedgang med tid. Signifikante korrelasjoner er markert med rødt.

	Etne (n=44)		Hardanger (n=56)	
	r_s	p-verdi	r_s	p-verdi
<i>Cryptocotyle lingua</i> (M)	0,69	<<0,001	0,67	<<0,001
<i>Derogenes varicus</i>	-0,07	0,65	-0,05	0,72
<i>Lecithaster gibbosus</i>	-0,33	<0,04	-0,33	<0,02
<i>Eubothrium</i> sp. cf. <i>crassum</i> (Juv)	-0,36	<0,02	-0,40	<0,003
<i>Scolex pleuronectis</i> A (PI)	-0,05	0,77	0,02	0,89
<i>Scolex pleuronectis</i> B (PI)	-0,37	<0,02	-0,41	<0,002
<i>Scolex bothriosimplex</i> (PI)	0,39	<0,01	0,26	0,06
<i>Diphyllobothrium</i> sp. (PI)	0,28	0,07	0,08	0,55
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (L3)	-0,32	<0,04	-0,34	<0,02
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (Lum)	-0,10	0,50	-0,16	0,24
<i>Hysterothylacium aduncum</i> (alle)	0,17	0,27	0,06	0,64
<i>Anisakis simplex</i> L3	-0,14	0,35	-0,05	0,72

M, metacercarielarver; Juv., juveniler, det vil si plerocercoider og små umodne bendelorm; PI, plerocercoid stadium, Lum, lumenale, det vil si frie inni tarmtrakten; L3, larvestadium 3, innekapslede nematoder i viscera. Tot, total; *Hysterothylacium aduncum* L3 og Lum slått sammen.

Der var en klar positiv sammenheng mellom ankomsttid og *C. lingua* abundans. Det ble også sett en slik sammenheng for *S. bothriosimplex* i Etne dataene. Negative sammenhenger dominerte for de gastrointestinale helminthene, og significant reduksjon i abundans med tid ble sett for *Lecithaster gibbosus*, *Eubothrium* sp. cf. *crassum*, *Scolex pleuronectis* type B og de innekapslede *H. aduncum* larvene i viscera.

4 Diskusjon

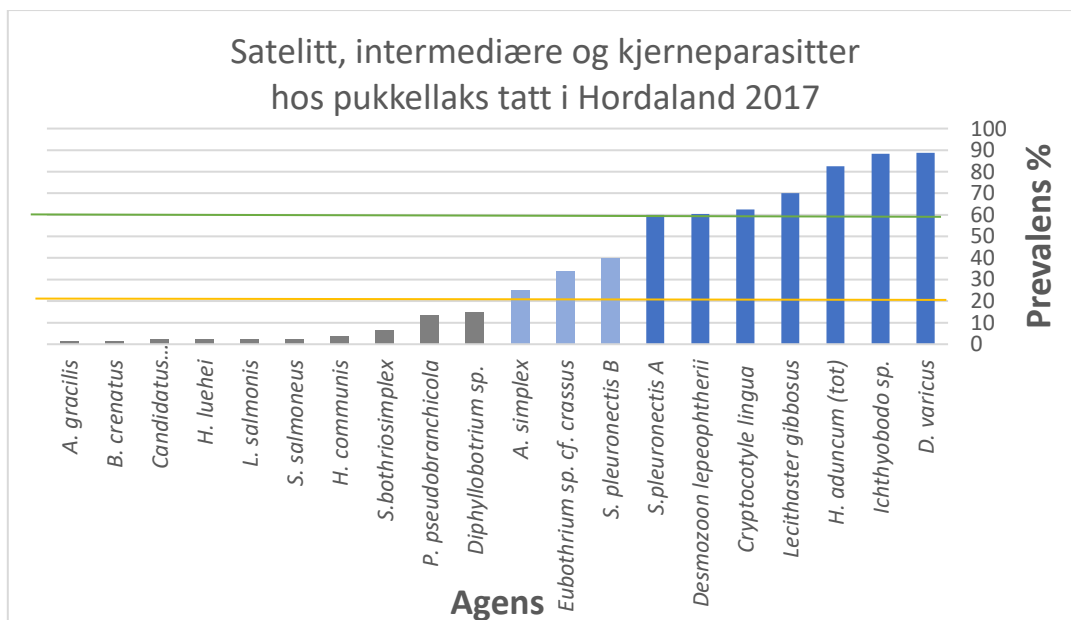
Parasittfaunaen til fisk består ofte av alminnelige, intermeditære og uvanlige arter. De alminnelige er de som forekommer med høy prevalens (>60%) i de fleste prøver av verten, og refereres ofte til som kjernearter. De uvanlige artene forekommer som regel med lav prevalens (<20%), har en tilfeldig opptreden og omtales som satellitt arter.

Det finnes fem tidligere studier av parasittsamfunn i voksen pukkellaks fra de introduserte populasjonene i Europa, alle fra Russland.

Hvis en definerer kjernearter som de som generelt har prevalens >60%, hadde pukkellaksene fra Hordaland 7 kjernearter (fig 34.). Tar man bort mikroparasittene som ble påvist molekylært blir det 5 arter. *Cryptocotyle lingua* er aldri blitt rapportert fra pukkellaks i de russiske områdene, denne parasitten er uvanlig i de arktiske områder, men vanlig i Norge (Bustnes & Galaktinov 1999). De fire andre artene, *Derogenes varicus*, *Lecithaster gibbosus*, *Scolex pleuronectis* og *Hysterothylacium aduncum* er ikke bare prevalente, men kan også forekomme i høye abundanser, og er karakteristiske parasitter hos denne introduserte arten.

Disse parasittene er alle generalister, som betyr at de har lav vertsspesifitet for fiskeverten, alle beinfisk kan bli infisert om de spiser mellomverten som er kilde til infeksjonene. Alle har også zooplankton copepoder som mellomverter, og kan dessuten mottas ved å beite på andre planktonspisere (transportverter, f. eks geleplankton og småfisk) (se under).

Dette mønsteret består også om en inkluderer intermediæreartene (Juvenile *Eubothrium* sp. cf. *crassum*, *Anisakis simplex*) og arter som kun er alminnelige i russiske områder (*Brachyphallus crenatus*)



Figur 33. Inndeling av parasittforekomst med hensyn på satellitt-, intermediære- og kjerneparasitter.

4.1 Makroparasitter

Trematoder

Trematodene har kompliserte livssykluser med flere verter involvert. Første mellomvert er vanligvis en snegle eller skjell hvor det utvikles cercarielarver. Disse er infektive for en andre mellomvert, hvor det utvikles metacercarielarver. Sluttverten infiseres vanligvis ved å spise andre mellomvert med metacercarier. Bentske dyr kan også være involvert, da disse livssyklusene er knyttet til grunne farvann og kontinentalsokkelen. De kan ikke gjennomføres i havområder over store dyp, f. eks i Norskehavet, hvor trematodeinfeksjoner i epipelagiske fisk er uvanlige. Pukkellaksene ble funnet å være vert for 7 arter, derav 2 som metacercarie larver og 5 som voksne. Alle trematoder som ble påvist er generalister, det vil si at de ikke er vertsspesialister, men har evne til å infisere ubeslektede arter av beinfisk.

Cryptocotyle lingua (Creplin, 1825)

Cryptocotyle lingua er en svært alminnelig og abundant trematode i tarmen på marine fiskespisende fugl i Nord-Atlanteren. Fuglen smittes ved å spise fisk med metacercarielarver i huden. Disse ligger i cyster, som vanligvis er omsluttet av pigmentceller, og forekomsten av melanoforer fører til at disse sees som svarte prikker i fiskens hud. Fisk smittes ved at cercarielarver av *C. lingua* borer seg inn i huden. Cercariene dannes i første mellomvert, som er strandsnegler av slekten *Littorina* sp. særlig vanlig strandsnegl *L. littorea*. Cercarier kan infisere forskjellige typer beinfisk som oppholder seg nær strandsonen. med svømmehale og øyeflekker som vil sverme ut og trenge seg inn i huden til uspesifikke marine fisk som oppholder seg langs med kystlinjen. (Berland 1988). Dette skjer vanligvis om sommer-høst, og har blitt knyttet til en sjøtemperatur helst over 10-12 grader (Sindermann & Farrin 1962)

Temperatur har vist seg å spille en viktig rolle for cercarier ved svermingen ut fra sneglen. Temperatur under 10°C vil føre til at svermingen stopper opp. Helst må temperaturen ligge over 12 grader for at svermingen ikke skal dabbe av (Sindermann and Farrin, 1962).

Abundansen av *C. lingua* i de undersøkte pukkellaksene varierte med elv og ankomsttid (se under). Da pukkellaksene dør i elva etter gyting, synes det sannsynlig at fugl langsmed elva kan bli infisert med *C. lingua* ved å spise av døde og døndefisk. Også pattedyr som blant annet rev kan infiseres ved å spise på åtslene (Kitamura & Machida 1973)

Pukkellaks representerer en ny vert for denne ikke larven.

Apatemon gracilis (Rudolphi, 1819)

Det ble kun funnet et eksemplar av denne metacercarien, som morfologisk ligner lite på *Apatemon gracilis* metacercarier (e.g. Gibson 1996, Bell et al. 2002). Den identifiseres her med *A. gracilis* på basis av sekvensidentitet. Dette er en ferskvannstrematode, som utvikler cercarier i sneglen *R. balthica* og har metacercarier i fisk. Vanlige sites for *A. gracilis* i laksefisk er pericardiet og bukhulen (Bell. et al. 2002). Sluttverten er fiskespisende ender, særlig laksand og siland i slekten *Mergus* spp. (Bell et al. 2002, Soldánová et al. 2018). Barskaya et al. (2005) fant metacercarier av den mindre arten *Ichthyocotylurus erraticus* på hjertet av pukkellaksyngel fra Keret elva ved Hvitesjøen. Denne arten som også har metacercarier i pericardiet hos laksefisk (Niewiadowska & Kozicka 1970), ble det lett etter i det undersøkte materialet men uten funn. Da metacercarien fra svelget var stor, og er av en ferskvannsort, representere den høyst sannsynlig en tidligere infeksjon fra elven der verten ble klekket. Pukkellaks representerer en ny vert for denne ikke larven

Derogenes varicus (Müller, 1784)

Derogenes varicus er en svært alminnelig trematode å finne i magesekken på marine fisk i Nord-Atlanteren. Den infiserer en rekke ubeslektede beinfisk, og regnes som svært lite vertsspesifikk (Gibson 1996. Køie 2000). Livssyklusen involverer minst 3 verter; første mellomvert er en snegle (*Lunatia* spp.) hvor det utvikles cercarier, disse infiserer en copepod andre mellomvert hvor det utvikles metacercarier og sluttverten er vanligvis er en beinfisk (Køie 1979). En rekke alminnelige zooplankton copepoder fungerer som andre mellomvert, deriblant rødåte (*Calanus* spp.). I tillegg, kan flere transportverter forekomme i livssyklusen, predatorer i planktonet (pilorm, ribbemanet) eller planktivore fisk (torskeyngel, sil) (Køie 1979, 1983, Karasev 1983). Rovfisk akkumulerer *D. varicus* fra byttedyrene, og kan få meget høye intensiteter (Perdinguero-Alonso et al. 2008). *D. varicus* forekommer nesten ikke i planktonspisende småfisk i Barentshavet eller Norskehavet, som småsild og lodde (Polyanskii 1955, Karlsbakk et al. 2003, Tolonen & Karlsbakk 2003, Karasev & Bakay 2004).

Derimot er returnerende atlantisk laks som regel infisert (Polyanskii 1955, Muladal 2001), normalt med intensiteter mellom 4 og 20 (Polyanskii 1955).

Trematoden er vanlig i pukkellaks som vandrer opp i elver på Kola halvøya eller i Kvitsjøen (Ninburg 1963, Grozdilova 1974, Ieshko et al. 2016),

og intensiteten kan bli svært høy (496; Grozdilova 1974). Trematoden er ellers alminnelig i Barentshavet, da særlig i de nordlige deler (Bakay 2011, 2017) og ved kysten i sør og øst (Polyanskii 1955, Polyanskii & Kulemina 1963), samt i Kvitsjøen (Shul'man & Shul'man-

Albova 1953). Den forekommer også langs hele norskekysten, Færøyene, Island og ved Grønland (e.g Meskal 1967, Pippy 1980, Køie 1984, 2000). Pukkellaksen kan følgelig akkumulere *D. varicus* ved å beite zooplankton og ved å spise transportverter i disse områdene.

Lecithaster gibbosus (Rudolphi, 1802)

Denne trematoden er alminnelig i tarmen på marine fisk i Nord-Atlanteren. Den infiserer en rekke ubeslektede beinfisk, og regnes som svært lite vertsspesifikk (Gibson 1996). Vanlige vertstyper er laksefisk, torskfisk, sildefisk og flatfisk (Køie 1989).

Cercarier utvikles i sneglen *Brachystomia eulimoides*. Cercariene frigjøres og kan bli spist av forskjellige zooplankton copepoder som fungerer som andre mellomvert med infektive metacercarier, eller andre infiserte fisker (Køie 1989., Gibson 1996).

Atlantisk laks er ofte infisert, i blant med svært høye tall (hundrevis)(Shul`man & Shul`man-Albova 1953, Muladal 2001). Pukkellaks er også ofte infisert, med høy abundans (Ninburg 1963, Grozdilova 1974, Ieshko et al. 2016). Parasitten forekommer i andre fisk langs Barentshavskystene og i Kvitsjøen, men synes ikke å være særlig abundant noen sted, unntak kan være Altafjorden og nord mot Svalbard (Shul`man & Shul`man-Albova 1953, Polyanskii 1955, Knudsen et al. 2005, Bakay 2017). I pelagiske torskøyngel (0-gruppe) var det mest *Lecithaster* sp. juveniler i det østlige (Novaja Zemilja, Pechora sjøen) og sørlige Barentshavet (Kola kysten), mens i åpent hav var abundansen beskjeden (Polyanskii & Kulemina 1963). I tillegg til zooplankton, synes det derfor mulig at småfisk langs kysten slik som torsk kan være en viktig kilde for *L. gibbosus* i laksefisk inklusiv pukkellaks.

Hemiurus luehei Odhner, 1905

Dette er en magetrematode som er spesifikk for sildefisker. Nakensneglen *Philine dentuculata* er første mellomvert, og de frittstående cercariene blir spist av zooplankton copepoder hvor metacercarie utvikles. Sluttverten er brisling og sild i våre farvann og laksefisk og andre rovfisk kan bli infisert ved å spise sildefisk (Køie 1990). Infiserte copepoder kan også bli spist av pilomer (*Sagitta* spp.), som kan fungere som transportverter. Parasitten forekommer langs kysten av det nordøstlige Atlanterhavet nord til Varangerhalvøya i Finnmark, hvor den finnes i småsild tatt nær land (Køie 1984, Karlsbakk et al. 2000). Den mangler ved Færøyene og Island. De infiserte pukkellaksene kan ha blitt infisert ved vandring langs Norskekysten. *Hemiurus luehei* infeksjon er ikke blitt påvist i pukkellaks tidligere.

Hemiurus communis Odhner, 1905

En svært alminnelig boreal trematode i magesekken på marine beinfisk langs norskekysten sør for Lofoten og rundt Nordsjøbassenget. I Troms, Finnmark og Barentshavet er den erstattet av den arktoboreale slektningen *Hemiurus levinseni* (Hemmingsen & MacKenzie 2013). *Hemiurus communis* infiserer en rekke ubeslektede beinfisk, og regnes følgelig som lite vertsspesifikk (Gibson 1986, Køie 2000). Livssyklusen involverer minst 3 verter, en snegl (*Retusa truncatula*) første mellomvert hvor det utvikles cercarier, andre mellomvert er en zooplankton copepode hvor metacercarier utvikles og sluttverten er fisk, særlig torskefisk (Køie 1995). I tillegg kan flere transportverter forekomme; predatorer i planktonet (pilorm, ribbemanet) eller små fisk (Køie 1983, 1995). Rovfisk akkumulerer også voksne *H. communis* fra mindre fisk, og kan få meget høye intensiteter (hundrevis) (Meskhal 1967). Returnerende laks er vanligvis ikke infisert (Polyanskii 1955, Bristow & Berland 1991, Muladal 2001). Parasitten er aldri før blitt påvist i pukkellaks.

Brachyphallus crenatus

Brachyphallus crenatus forekommer i magsekken hos flere ubeslektede beinfisker og har en arktoboreal utbredelse i Atlanteren (Køie 1992). Livssyklusen består av minst tre verter. Første mellomvert er sneglen *Retusa obtusa* hvor det utvikles cercarier, og andre mellomvert er en zooplankton copepode hvor de infektive metacercariene utvikler seg. Sluttvert er beinfisker, særlig salmonider, sildefisker, stiklingfisker og flyndrefisker (Køie 1992). Ribbemaneter og pilorm kan i tillegg fungere som transportverter (Køie, 1983). Infeksjoner med *B. crenatus* er alminnelige i tilbakevandrende atlantisk laks (Shul`man & Shul`man-Albova 1953, Polyanskii 1955, Bristow et al. 1996, Muladal 2001) i Kvitsjøen og Barentshavsregionen av Russland og Norge. Parasitten ble ikke registrert av Bristow og Berland (1991) i 62 villaks samlet inn i Hordaland (Sotra), men er likevel funnet i store mengder i enkelte returnerendevillaks undersøkt fra fylket (Karlsbakk E, pers. komm.). I pukkellaks fra Russiske elver på Kola og i Kvitsjø-området er prevalensen også høy (46 – 67%), men abundansen er ikke like høy som i atlantisk laks i regionen. Sammenlignet var prevalensen i pukkellaks fra Hordaland svært lav (1%). Parasitten er alminnelig i små planktivore fisk i Kvitsjøen, men er mindre vanlig i Barentshavet (Shul`man & Shul`man-Albova 1953, Polyanskii 1955, Polyanskii & Kulemina 1963, Bakay 2017). Der det er funnet mest i fisk er helt ved land på Novaja Zemilja, Pechora sjøen og Svalbard (Dogel` & Markov 1937, Polyanskii & Kulemina 1963, Rokicki et al. 2012). Det er følgelig sannsynlig at pukkellaksen som vokser opp i Kvitsjøen kan få høye *B. crenatus* abundanser der. Hvor større pukkellaks og atlantis laks blir infisert er uklart, parasitten synes lite abundant i relevante beiteområder.

Cestoder

Cestoder eller bendelorm kan forekomme i fisk som voksne i tarmen, eller som larver/juveniler frie i tarm eller inneklede i vev. De fleste marine artene har tre-verts livssykluser, der copepoder er første mellomvert. Copepodspisere inklusivt fisk er transportverter eller andre mellomvert, og sluttverten er fiskepisende fisk, fugl eller marine pattedyr (Williams & Jones 1994, Kuchta et al. 2017, Scholz & Kuchta 2017).

Scolex pleuronectis Müller, 1788

Phyllobothriide tetraphyllider har lite kjente livssykluser, men tre verter er kjent å være involvert. En copepod som første mellomvert hvor plerocercoid larver utvikles, benfisk eller blekksprut som andre mellomvert med plerocercoid larver, og en sluttvert bestående av elasmobranch, hvor man finner voksne bendelormer (Williams & Jones 1994). Plerocercoidene som kryper fritt i tarmen på benfisk og blekksprut er lenge blitt referert som *Scolex pleuronectis* eller *Scolex polymorphus*. Disse vitenskapelige navnene brukes nå som samlebetegnelser, de dekker mange slekter og arter (Reimer 1970). Ved bruk av molekylære metoder, hovedsaklig LSU rDNA sekvensering, har en begynt å identifisere slike plerocercoider fra fisk og blekksprut (Jensen & Bullard 2010; Randhawa & Brickle 2011). Jeg klassifiserte opprinnelig *S. pleuronectis* funnet i pukkellaksene i 3 kategorier. Det ble så gjort mere detaljerte studier på scolex-karakterer og rDNA sekvensering, som viste at to morfotypene var av samme art. Det ble altså funnet bevis for forekomsten av to arter, referert til som «A» og «B». Polyanskii (1955) fant 26 arter fisk i Barentshavet infisert med *Scolex polymorphus*. Han skilte mellom to distinkte typer, en liten (<0,5 mm) og pigmentfri, og en større (>1 mm) med rødt pigment bak scolex. Jeg fikk identisk sekvens av type A («stor») *S. pleuronectis* fra pukkellaks og en type påvist i lodde og laksesild i Barentshavet, som var rødpigmentert som levende. Dette tyder på at type A («stor») *S. pleuronectis* fra pukkellaks kan være identisk med Polyanskii's (1955) 'større' type. Trolig mister disse cestodelarvene pigmenteringen etter frysing. *Scolex pleuronectis* type B («liten») kan representere hans «lille» type. Ninburg (1963) gjorde en parasitt undersøkelse av tilbakevandrende pukkellaks ved Murmansk (Kolahalvøya, Russland).

Her beskrev han blant annet tre *Scolex polymorphus* typer (I-III) hvor type I & II basert på størrelse og morfologi kan være identisk med min type «A» som da også ble regnet som to typer frem til sekvensinformasjonen viste dem å være av samme art. Ninburgs` type III passer størrelsesmessig med min type «B», men morfologisk synes de å være forskjellige på en karakter; Ninburg avbildet bothridiene med ett loculus, min type «B» hadde to.

Plerocercoider som basert på sekvensidentitet (100%) trolig er av samme art som vår type A er tidligere påvist i den tiarmede blekkspruten *Doryteuthis gahi* tatt ved Falklandsøyene i Sør-Atlanteren, og i Stillehavs-sildekonge (*Regalecus russelli*) tatt ved California, USA (Randhawa & Brickle 2011; Kuris et al. 2015). Disse sammenligningene involverer den variable D2 regionen i LSU genet, som regnes egnet til å skille arter (Randhawa & Brickle 2011). Disse larvene kan kobles til voksne *Clistobothrium* sp. i håbrann på basis av sekvensidentitet (Randhawa & Brickle 2011). Håbrann (*Lamna* spp.) forekommer i alle disse områdene (FishBase 2019, <https://www.fishbase.in/search.php>). Det foreligger få studier av haiens parasitter i Nord-Atlanteren, men parasitter som i eldre studier ble identifisert med *Phyllobothrium* arter, kan representere denne ubeskrevne *Clistobothrium* arten (se Williams 1968). Den mest sannsynlige sluttverten for *Scolex pleuronectis* type A (= *Clistobothrium* sp.) i Nord-Atlanteren er derfor håbrann, som er en viktig predator i de øvre vannlag i åpent hav (Pethon, 1985)

Den mindre *Scolex pleuronectis* type B ga sekvensidentitet med *Phyllobothrium piriei*, en art som infiserer gjøkskate (*Leucoraja naevus*) (Williams 1968).

Skaten er vanlig ved de Britiske øyene, i Nordsjøen og nordover til Shetland og Færøyene. Den er ikke vanlig langs norskekysten, og forekommer ikke i Barentshavet. Hadde en hatt bedre kunnskap om vertsspekteret og utbredelsen til *P. piriei*, og utelukket at den også forekommer i mer nordlige skatearter, kunne denne bendelormlarven muligens vært brukt som en biologisk indikator. Observasjonen gjort her antyder at noe pukkellaks kan ha beitet ved Færøyene og Shetland, men dette er usikkert. *Scolex pleuronectis* infeksjoner forekommer i returnerende atlantisk laks i Kvitsjøen og Barentshavsområdet (<35%), men abundansen er vanligvis lav (<4) (Shul'man & Shul'man-Albova 1953, Polyanskii 1955, Bristow et al. 1996, Muladal 2001) Parasittypen ble derimot ikke registrert av Bristow og Berland (1991) i 62 villaks samlet inn i Hordaland (Sotra). I pukkellaks fra de Nord-Russiske elvene var *S. pleuronectis* svært alminnelig (Ninburg 1963, Grozdilova 1974, Ieshko et al. 2016), med prevalens signifikant høyere enn funnet i Hordaland 2017 (FET, 0,001<p<0,05).

Eubothrium sp. cf crassum

Eubothrium crassum (Bloch, 1779) er en utbredt parasitt som man hovedsaklig finner i fordøyelsestrakten hos laksefiskene laks og ørret i ferskvann. Den er også funnet å infisere laksefisk i sjøvann, og den marine formen eller muligens arten refereres derfor ofte til som *Eubothrium* sp. (Berland & Bristow 1990).

I oppdrett på vest kysten av Norge er denne cestoden alminnelig hos oppdrettslaks og regnbueørret (Berland 1988). Livssyklusen involverer en plankton copepode (første mellomvert), små fisk kan være transportverter og sluttevert er visse laksefisker (hovedsakelig *Salmo* spp.). Da zooplankton driver inn i merder, og larver fra copepoder kan infisere sluttverten, er parasitten vanlig i sjøoppdrett av laks (Berland & Bristow 1991; Saksvik et al. 2001).

Frie plerocercoid-larver av bothriocephaloid-type fra tarmen til pukkellaksene var vanligvis morfologisk identifiserbare som *Eubothrium crassum*. I Kvitsjøen er 13,3 % av sjøtatt pukkellaks funnet infisert med *Bothriocephalus* sp. i tillegg til *Eubothrium* sp. (Grozdilova 1974). Noen av eksemplarene funnet i pukkellaksen fra Hordaland ble vurdert å være *Bothriocephalus*-lignende eller var ikke-identifiserbare på grunn av sterkt kontrahert framende. Et utvalg av disse ble molekylært identifisert ved LSU rDNA sekvensering, som i alle tilfeller ga identitet med *Eubothrium crassum*. Derfor, ble alle de *Bothriocephalus*-aktige plerocercoidene funnet også tilskrevet *Eubothrium crassum*. Da det ikke er mulig å skille de marine og ferskvannsvariantene av *E. crassum* morfologisk eller ved rDNA sekvenser, refereres de til som *Eubothrium* sp. cf. *crassum*. Returnerende atlantisk laks har oftest en blanding av store voksne bendelorm, og juveniler (Kennedy 1978). Prevalens og intensitet er oftest høy (100%) i laks tatt i Kvitsjøen og i Barentshavet (54-100%) (Shul'man & Shul'man-Albova 1953, Polyanskii 1955, Kennedy 1968, Muladal 2001), men lavere i tilbakevandrende laks tatt i Hordaland (36%, Bristow & Berland 1991). Denne bendelormen er også svært alminnelig i pukkellaks, men er aldri blitt funnet som stor og kjønnsmoden. Eksemplarer i pukkellaks målte 3-20 mm ifølge Ninburg (1963), det største eksemplaret sett her kan ha vært opp mot 30 mm. Denne laksefisken kan derfor trolig kun fungere som transportvert. I atlantisk laks blir bendelormen opp til 150 cm lang (Shul'man & Shul'man-Albova 1953).

Diphyllobothrium sp.

Plerocercoider av *Diphyllobothrium* spp. i marine fisk kan forekomme innkapslete inne i magesekk-veggen (Andersen 1977, Shults & Frost 1988). Livssyklusene til marine diphyllobothriider er lite kjent. Mest trolig er copepoder første mellomvert, marine fisk andre mellomvert og fiskepisende pattedyr sluttvert (sel, hval)(Kuchta et al. 2015).

Å gjøre funn av *Diphyllobothrium* sp. plerocercoider hos marine fisk er sjeldent, men Andersen (1977) beskrev 5-10 mm lange larver, funnet i eller på utsiden av mageveggen hos kolmule (*Micromesistius poutassou*) tatt ved Færøyene. Hennes plerocercoider var følgelig betraktelig større enn de funnet i magesekken hos pukkellaksene i Hordaland, som målte fra 0,55 til 1,66 mm i lengde. Ninburg (1963) fant cestodelarver referert til som «Plerocercoid B» i mageveggen på pukkellaks fra Murmansk, og mente de tilhørte en ferskvanns-*Diphyllobothrium* art. Det vil, etter revisjonen av disse bendelormene (Waeschenbach et al. 2017), sannsynligvis si en *Dibothriocephalus* art som kjønnsmodnes i fugl (tidligere i *Diphyllobothrium*). Grozdilova (1974) fant en høy abundans av «*Diphyllobothriidae* gen. sp.» larver i pukkellaks fra Hvitesjøen, og mente heller at de representerer en marin art som blir voksen i sel. Sekvensinformasjonen oppnådd her støtter dette, LSU rDNA sekvensene viste størst likhet med en bendelorm fra sjøløve i Stillehavet. Sekvensinformasjon foreligger for noen bendelormer fra sel i våre Arktiske farvann, men ikke fra alle. Det synes sannsynlig at larvene i pukkellaks representerer en art som ennå ikke er karakterisert molekylært.

Scolex bothriosimplex Reimer, 1970

Larver av denne typen fra fisk i Nord-Atlanteren er tidligere beskrevet fra sild av Reimer (1970), Sekhar & Threlfall (1970), Palsson & Beverley-Burton (1984), Rahimian (2007). Morfologisk passer larvene fra pukkellaks best med de beskrevet fra leppefisken *Tautogolabrus adspersus* og lodde ved Newfoundland (Sekhar & Threlfall 1970; Palsson & Beverley-Burton 1984). Lignende larver er også påvist i fisk fra Sørishavet (Wojciechowska 1993), og Hoberg (1987) mente på basis av likhet med umodne cestoder fra tarmen på sjøfugl at de måtte være *Tetrabothrius* spp. larver. Galkin (1996) mente det samme om arktiske *S. bothriosimplex*. Andre har ment at de er pseudophyllider (Sekhar & Threlfall 1970), acrobothriider (Rahimian 2007) og tetraphyllider (Reimer 1970). Antarktiske *S. bothriosimplex* inkludert her var *Tetrabothrius* spp. larver. Dessverre lot det seg ikke gjøre å identifisere larvene fra pukkellaks molekylært. *Scolex bothriosimplex* er tidligere funnet i atlantisk laks i Norskehavet (Karlsbakk E., upublisert). Dette er første påvisning av denne parasittypen i pukkellaks.

Nematoder

Ascaridoide nematoder i familiene Raphidascarididae og Anisakidae er alminnelige som larver hos en rekke marine fiskearter i nord-atlanteren. Raphidascarididene blir også voksne i fisk, mens anisakidene modnes i varmblodige sluttverter. Nematodene har 5 stadier, der 4 er larver (L1-4) før det voksne stadiet. Stadiene skilles av kutikulaskifter.

Hysterothylacium aduncum (Rudolphi, 1802)

Dette er en tallrik og alminnelig nematode i en rekke marine beinfisk (Berland 1991, Køie 1993). Livssyklusen er komplisert, næringsnettet i havet brukes. Første mellomvert er copepoder og andre små krepsdyr, neste mellomvert eller transportverter er bentiske eller pelagiske evertebrater og småfisk, sluttvert er fisk. Samme fiskeindivid kan altså være mellomvert og sluttvert. Større fisk infiseres ved å spise evertebrater eller fisk med innkapslede larver (L3), eller fisk med frie L3-4 og voksne i fordøyelsessystemet (lumenale). Aktuelle evertebrater som kan besørge transmisjon til laksefisk er zooplankton copepoder som røddåte, pilormer, ribbemaneter, meduser og krill (Køie 1993). Svært mange (37) fiskearter i Barentshavet kan være infisert (Polyanskii 1955). Små planktonspisende fisk som lodde, 0-gruppe sild og torsk er ofte infisert (Polyanskii 1955, Polyanskii & Kulemina 1963, Karlsbakk et al. 2000), og kan være viktige i transmisjonen til større fisk.

Ute i Norskehavet synes det ikke å foregå transmisjon av *H. aduncum*, sild som beiter plankton der blir ikke infisert. Derfor er plankton og småfisk i arktiske kystsrøk, ute i Barentshavet og langs norskekysten mulige kilder til en vanligvis høy abundans av disse nematodene i atlantisk laks og i pukkellaks.

Anisakis simplex (Rudolphi, 1809)

Anisakis simplex også kjent som «kveis», er i det infektive larvestadiet (L3) en alminnelig forekomst på viscera og i muskulaturen hos mange marine beinfisk i Nord-Atlanteren (Køie et al. 1995). Sluttverten er hval (Mattiucci et al. 2017). Rundormen benytter primært krill som første mellomvert, og L3 larver infektive for sluttverten kan utvikles i dem. Fisk som spiser krill fungerer som transportverter (Busch et al. 2012). Horst (2011) sjekket tilbakevandrende laksefisk i Alaska for *A. simplex*, deriblant pukkellaks. Alle pukkellaks som ble sjekket ($n=12$) var infiserte og >90% av larvene ble funnet i muskulaturen med en intensitet på 21. Grozdilova (1974) fant en gjennomsnittlig abundans på 11 (7-16) i pukkellaks fra Kvitsjøen, veldig ofte innkapslet i fiskens muskulatur, spesielt på ryggsiden (opptil 20 stk). Undersøkelsesmetoden som ble benyttet her var antagelig ikke god nok til å detektere alle *Anisakis simplex* i muskulaturen. Det ble funnet 40 larver innkapslet i innvollene på 20 fisk, og med et viscera: muskulatur forhold på 1:9 burde der ha vært hundrevis i muskulaturen på pukkellaksene. Det synes svært usannsynlig at abundansen i muskulaturen kan ha vært så høy og ikke blitt registrert. Grozdilova's (1974) funn slår fast at *A. simplex* kan forekomme i fileter, og spising av rå pukkellaks medfører derfor en fare for infeksjon (Anisakidose) hos mennesker (D'Amelio et al. 2012). En bedre kartleggingen av risikoen må gjøres med en mer optimal metode, for eksempel ved bruk av UV-pressmetoden (Levsen & Maage 2015).

Copepoder

Lepeophtheirus salmonis (Krøyer, 1838) - Lakselus

Lakselusa er en alminnelig parasitt på laksefisker i slektene *Salmo*, *Oncorhynchus* og *Salvelinus* i sjøvann (Torrissen et al. 2013). Pukkellaks i Stillehavet er ofte infisert (Jones & Beamish 2011). I Barentshavet og Kvitsjøen er der få funn av lus på pukkellaks, men mange av undersøkelsene som er gjort er på elvetatt fisk som vil miste mange lus siden disse har redusert overlevelse i ferskvann (Hahnenkamp & Fyhn 1985, Connors et al. 2008).

Enkelte voksne lakselus kan overleve lenge i ferskvann på fisken, og det er trolig grunnen til at to voksne hunnlus ble påvist i laks fra Etne. Den reelle abundansen til lakselus på pukkellaks i norske farvann er foreløpig ukjent. Grozdilova (1974) fant caligide chalimusstadier på pukkellaks tatt i Kvitsjøen, som trolig var lakselus, da skottelus *Caligus elongatus* ikke synes å forekomme der (se Shul'man & Shul'man-Albova 1953).

Salmincola salmoneus (L.)

Dette er en alminnelig og utbredt ferskvannsparasitt som parasitterer gjellene hos atlantiske laks (Friend 1942). Parasitten kan, ved høy abundans, forårsake beiteskader på laksens gjeller (Friend 1942, Bruno et al. 2013).

Gjellelusa har direkte livssyklus, der copepodittene klekkes direkte fra eggsekkene hos hunnene. Disse vil kunne infisere gjellene hos laks, hvor de gjennomgår fire chalimus steg (Kusterle et al 2012). Hannen befrukter hunnen og han dør like etter. Hunnen modnes og kan produsere eggsekker hver 3.måned (Kusterle et al 2012). Parasitten produserer ikke egg i laksens sjøfase, men modnes simultant med verten på gytevandringen. At den introduserte pukkellaksen fungerer som vert for *S. salmoneus* er overraskende, da *Salmincola* artene er vertsspesifikke. Mye høyere prevalens og abundans er tidligere blitt registrert på pukkellaks på Kola-halvøya (Ninburg 1963), 92% prevalens og abundans på opptil 70 (snitt 20). Det synes å kunne være en fare for at pukkellaks etableringer kan øke smittepresset med denne parasitten i våre lakseelver.

4.2 Mikroparasitter

Spironucleus spp.

Spironucleus artene er alminnelige encellede flagellater som er tarmsymbionter i mange fisk. De er vanligvis harmløse. *Spironucleus salmonicida* kan derimot forårsake systematiske infeksjoner hos oppdrettet laksefisk og er en alvorlig patogen (Jørgensen et al. 2011). Ved infeksjon i laks vil det kunne dannes byller i fiskens muskulatur med ubehagelig lukt, som gjør fisken uomsettelig for konsum og kan medføre store tap (Poppe et al. 1992, Jørgensen et al. 2011). *Spironucleus salmonicida* har en begrenset (kjent) utbredelse, den er påvist noen steder i Nord-Norge (atlantisk laks, røye) og ved ett tilfelle i oppdrett i British Columbia (Canada) (kongelaks, *Oncorhynchus tshawytscha*) (Bruno et al. 2013). Tilfellene i laks i Nord-Norge ble knyttet til samme smoltleverandør og ett settefiskanlegg i Finnmark, (Jørgensen et al. 2011). Det ble derfor foretatt undersøkelser av fisk fra vannkilden til dette anlegget, hvor parasitten ble påvist i røyr og ørret. Dette er det eneste stedet denne parasitten er påvist i villfisk. Den vanligste *Spironucleus* arten i norske laksefisk er *S. barkhanus*, som ikke forårsaker systemiske infeksjoner og sykdom. Siden *S. salmonicida* også forekommer i Stillehavet, kan det tenkes at arten er overført til Russiske områder med de mange utsettingene av pukkel- og ketalaks der de siste 50 årene. En fare er derfor at pukkelaks kan være asymptomatisk bærer av parasitten og spre den. Derfor ble det gjort molekylær analyse av tarmprøver fra pukkelaks tatt i Hordaland (Etne). Alle prøver var negative. Metoden ville også fanget opp andre *Spironucleus* arter som *S. barkhanus* og *S. salmonis*, så tarminfeksjoner med disse *Spironucleus* spp. forekom trolig ikke.

Parvicapsula pseudobranchicola

Dette er en marin myxosporidie, som parasitterer pseudobranchiene hos villaks og sjøørret i hele Norge. Den infiserer ofte også oppdrettslaks og regnbueørret, og kan forårsake sykdommen parvicapsulose. Denne er et problem primært i Nord-Norge (Brevik et al. 2017, Nylund et al. 2018). Parasitten danner sporer i pseudobranchien, og sykdom er knyttet til sporefrigjøringen. Dødeligheten kan komme opp i 40% (Bruno et al. 2013), men vanligvis er tapene representert ved at det oppstår taperfisk i merdene, som så fiskes ut og destrueres (Nylund et al. 2018). Livssyklusen til *P. pseudobranchicola* er ikke kjent (Nylund et al. 2018), men innbefatter trolig en annen vert, en leddorm. I denne, trolig en polychaert, dannes sporer som infiserer fiskeverten via vannet.

Parvicapsula pseudobranchicola infeksjoner ble påvist med PCR i pseudobrankieprøver fra 4/30 pukkellaks fra Hordaland (Etne & Ekso). De positive fiskene hadde ikke *P. pseudobranchicola* sporer i pseudobrankie-utstrykene som ble undersøkt. Dette kan tyde på at fiskene nylig var infisert, slik at sporer ennå ikke kunne ha blitt dannet. Siden smitten er kjent å være knyttet til fjordstrøk, kan dette ha skjedd ved innvandringen til Elvene. En mulighet er da at lengre innvandringsdistanse øker sannsynlighetene for infeksjon. Her ble det da funnet 1/20 positive hos laks med kort innvandringsavstand, og 3/10 positive av de med lang (Ekso). En slik sammenheng synes derfor mulig.

En annen årsak til at sporer ikke ble funnet kan være at pukkellaks er en uegnet vert. Det som er kjent tyder ikke på at dette er trolig, i British Columbia infiseres pukkellaks av to andre *Parvicapsula* arter, *P. minibicornis* og *P. kabatai* som begge sporulerer (Jones et al. 2003,2006), og i Norge utvikles det *P. pseudobranchicola* sporer i slektningen regnbueørret (*Oncorhynchus mykiss*) (Nylund et al. 2018).

4.3 Virus

Pukkellaksens vandringer langs norskekysten er dårlig kjent, men det kan være en fare for at de kan smittes med virus fra oppdrettslaks eller villfisk og spre smitten ved oppgang i mange elver. Pukkellaksen som vandrer opp i elver i Hardanger passerer også mange anlegg, som kan ha infeksjoner eller utbrudd med f. eks. SAV/PD. Da pukkellaksens rolle som potensiell smittebærer har vakt stor oppmerksomhet, ble det gjort qPCR analyser for viktige enzootiske virale sykdomsagens med vanlig forekomst: ILAV, IPN, SAV, PRV1 og PMCV. I tillegg ble det testet for IHNV, som ikke forekommer i Norge, men kan forekomme hos *Oncorhynchus* spp. i Stillehavet. Dette viruset ble tatt med fordi det representerer en så stor trussel, pukkellaks er der viruset er enzootisk lite mottagelig (Bootland & Leong 1999).

Infeksiøs hematopoietisk nekrose virus (IHNV) er et alvorlig patogen i mottagelige verter. Stillehavslaks er resistent mot dette viruset, men fungerer som en bærer av agenset (Bruno et al. 2013). I Norge er IHNV oppført som en listeført 2 sykdom (ikke-eksotiske sykdom), herunder er pukkellaks nevnt som en mottagelig art, jfr. omsetnings- og sykdomsforskriften for akvatiske dyr, 2008, vedlegg 1. Oppdrettet atlantisk laks som ikke hører naturlig hjemme på stillehavskysten av Canada, har hatt IHN utbrudd med høy dødelig (Bruno et al 2013).

Viruset ble nylig påvist hos regnbueørret i norden, Finland i 2017

(<https://www.ruokavirasto.fi/en/farmers/animal-husbandry/animal-health-and-diseases/animal-diseases/fish/ihn/infectious-ihn-virus-in-finland/>). Pukkellaks er potensielt en effektiv spredder om viruset introduseres til Norge.

Infeksiøs lakseanemi virus (ILAV). ILA er en virussykdom som blir sett på som alvorlig og smittsom hos den atlantiske laksen i Norge. Det har blitt rapportert funn av ILAV fra de fleste land som driver med lakseoppdrett der i blant Canada, Færøyene og Chile (Bruno et al. 2013). ILAV ligger under listeførst 2 sykdom (ikke-eksotiske sykdom), herunder er flere laksefisk nevnt som mottagelig arter, jfr. omsetnings- og sykdomsforskriften for akvatiske dyr, 2008, vedlegg 1. Ettersom flere laksefisker er listet som mottagelig, kan man ikke utelukke at pukkellaks kan være en bærer.

Infeksiøs pankreassykdom virus (IPNV). IPN en virussyksom som primært rammer oppdrettet regnbueørret og atlantisk laks. Ettersom viruset har en vid distribusjon hos mange ville fiskearter (Bruno et al 2013), kan man anta at pukkellaks kan være en potensiell bærer, men lite er kjent for spredningen av agens hos bærere (Bruno et al 2013).

Salmonid alfavirus (SAV) pankreassykdom (PD), en alvorlig sykdom hos oppdrettslaks og regnbueørret. Der er flere subtyper av viruset, men kun SAV 2 og SAV 3 har blitt påvist i Norge er PD oppført som en listeført 3 sykdom (Nasjonale sykdommer), salmonider er mottagelig art, jfr. omsetnings- og sykdomsforskriften for akvatiske dyr, 2008, vedlegg 1 og følgelig regnes pukkellaks som en potensiell mottager for viruset.

Piscint Myokarditt virus (PMCV). Viruset forårsaker kardiomyopatisyndrom (CMS) eller hjertesprekk på folkemunne, er en sykdom vanlig hos oppdrettslaks i sjøfasen, men ungfisk smittes også. Dette viruset forårsaker hjertelidelse hos fisken og store økonomiske tap for næringen. Den er rapportert fra Norge, Irland, Skottland og Færøyene samt et CMS-lignende tilfelle i Canada, i tillegg ble det i 2017 rapportert om funn hos berggyllt og grønngyllt på Irland. CMS er ikke en meldepliktig sykdom (Hjeltnes et al. 2018). Fiskehelse rapporten (2018) omtalte CMS til å være den viktigste virussykdommen, og viser til at smittede oppdrettsanlegg øker. Hittill er det kun oppdrettslaksen som er det kjente smittereservoaret (Hjeltnes et al. 2018), men ingenting kan utelukkes og derfor testes pukkellaksen da det er en laksefisk som kan vandre over store distanser.

Hjerte- og skjellemuskelbetennelse (HSMB)

Denne systemiske sykdommen er forårsaket av et piscine orthoreovirus (PRV) som er alminnelig er å finne hos oppdrettslaks (*S. salar*). (Bruno et al 2013, Fiskehelse rapporten 2018). HSMB er en viktig virussykdom i oppdrettsnæringen som forårsaker dødelighet i henhold til behandling/håndtering. Virussykdommen var meldepliktig frem til 2014, da det ble opphørt. (Hjeltnes et al. 2018). PRV-1 er en genotype av PRV som er blitt assosiert med atlantisk laks og *Onchorchynhus* spp. (Coho-laks & Chinook-laks), derfor ble det valgt å screene pukkellaksen for dette.

4.4 Gjelleagens

Det ble valgt å kjøre analyser på gjellene hos pukkellaks fra Etne på grunn av at pukkellaksens store utbredelse og dens evne som en potensiell smittebærer. Det ble påvist funn av tre alminnelige forekomster av gjellesykdommer i forbindelse med høst hos laksefisk. Disse parasittene omtalt for å kan gi problemer for laksens gjellehelse.

Candidatus Branchiomonas Cysticola

Dette er en intracellulær bakterie som er knyttet til hyperplasi og betennelsene i gjellene hos laks, særlig parr om høsten (Grefsrud et al. 2018). Den smittes fra fisk til fisk i ferskvann og forårsaker skade på gjellevevet (Hjeltnes et al. 2018). I prøvematerialet fra Etne var 1/43 positive med en Ct-snittverdi på 21,9.

Desmozoon lepeophtherii

En parasitisk mikrospordie som forekommer i cellene hos laks og lakselus. Lite er kjent ved dens betydning, men det kan tyde på at den forårsaker infeksjoner som gir sykdom både i gjeller og i fordøyelsessystem. Det er omtalt som en alminnelig parasitt, men ikke sett på som et stort problem (Hjeltnes et al. 2018). Parasitten var alminnelig, og pukkellaksen ble trolig smittet ved innvandring i fjorden, eventuelt også ved vandring langs kysten der det er mye oppdrettsanlegg.

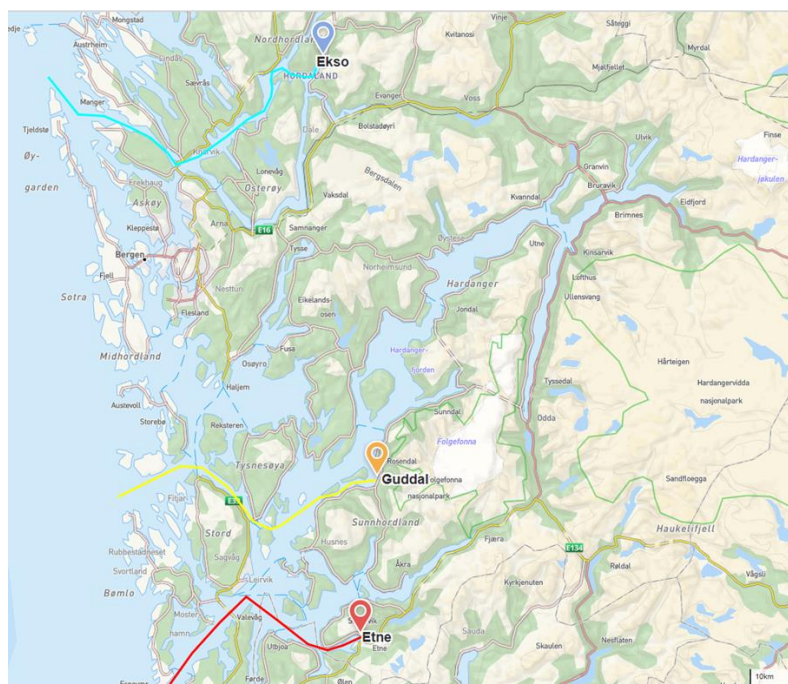
***Ichthyobodo* sp. («costia»)**

Parasittiske encelle flagellater som infiserer vertens skinn, finner og gjeller hos flere fiskearter i alle livsstadie (stamfisk-, settefisk- & matfiskanlegg) (Hjeltnes et al. 2018). Denne parasitten er assosiert med sykdommen costiose, og utgjør en dødelighet hos oppdrettslaks ved massiv forekomst. Kun en art er aktuell på laksefisk i sjøvann, nemlig *I. salmonis*, som er en euryhalin (Isaksen et al. 2011). I ferskvann (elva) kan det bli påslag med *I. necator*. Jeg fikk dessverre ikke tid til å identifisere arten ved SSU rDNA sekvensering.

Parasitten forekom i store mengder, hvilket muligens kan ha med immunsvekkelse hos de kjønnsmodne fiskene. Pukkellaksene kan ha blitt smittet med *I. salmonis* ved innvandring i fjorden, men kan også ha vært bærer av den flagellarten siden de var yngle.

4.5 Sammenligning av elver

Pukkellaksinvasjonen 2017 skjedde i et stort antall elver på kysten. Det er usannsynlig at fiskene som vandret opp i de forskjellige elvene i Hordaland hadde forskjellig opphav. Derfor kan det forventes det at parasittabundansen i pukkellaksen i elvene Etne, Guddal og Ekso i utgangspunktet ikke var signifikant forskjellig. Derimot kan nysmitte ved innvandringen variere, f.eks. med lokalt smittepress og innvandringsdistansen. Pukkellaksen slutter å spise omtrent ved ankomst til elven (Heard 1991), hvilket kan bety at lokalt abundante byttedyr og parasittene de bærer på kan påvirke parasittsamfunnene noe i slutfasen i forskjellige fjorder. Da migrasjonshastigheten er svært stor, flere mil per døgn (maks. 7,7) (se Heard 1991), kan denne innflytelsen være ubetydelig. Derimot kan smittepresset med lakselus og svartprikkparasitten *Cryptocotyle lingua* variere. Da de fleste fiskene studert her var tatt i elv, vil den sanne lakselus-abundansen være ukjent. Derimot var det signifikante forskjeller i *C. lingua* abundansen, som var klart lavere i Etne fisken. Dette synes å sammenfalle med den kortere migrasjonsavstanden Etne-fisken må vandre, ca. 55 km, versus ca. 70 for Guddal og 75 km for Ekso (fig.35). De statistiske analysene viste også signifikant forskjell i forekomsten av *Scolex pleuronectis* typene, men dette legges det lite vekt på her, da disse ofte representerte subjektive klassifiseringer av dels store antall basert på størrelse.



Figur 34. Oversikt over de tre elvene i Hordaland, med oppmerking av pukkellaksens korteste vandringsvei fra sjø til elv

Kart hentet fra kommunekart.com

Har ankomsttid betydning?

Det kan tenkes at pukkellaksene som ankommer elvene i Hardanger har fastet i forskjellig tid før de vandret opp i elva og ble tatt i fellene. Der kan være tap av parasitter fra fisken på grunn av at disse opplever sviktende næringstilgang, som kan gi nedgang i abundans med tid. Det ble sett slike sammenhenger, der var en tendens til lavere abundans av *Lecithaster gibbosus*, *Eubothrium* sp. cf. *crassum*, *Scolex pleuronectis* type B og de inne kapslede *H. aduncum* larvene i viscera. Særlig abundansen av *L. gibbosus* og *Eubothrium* sp. cf. *crassum* synes påvirket av tid, og kan ha med anoreksi å gjøre.

Det kan også ha bakgrunn i et skift i opphavet til fisken som vandrer inn, dvs. det kan være økt innslag av fisk fra andre beiteområder. Særlig tendensen til lavere abundans av *H. aduncum* larver lar seg ikke forklare med at fisken slutter å spise, disse larvene vil leve lenge inne kapslet i fisken (år). Endringen i abundansen av små *Scolex pleuronectis* med tid er usikker, klassifiseringen i type A og B var subjektiv og gode karakterer for å skille dem ble først oppdaget sent.

Den sterkeste sammenhengen med ankomsttidspunkt viste svartprikkparasitten *C. lingua*. Hos denne parasitten var det en klar økning i abundans med senere ankomst. Pukkellaksene ble trolig utsatt for et økt smittepress i fjorden etter som vanntemperaturen steg. Sindermann & Farrin (1962) demonstrerte økt *C. lingua* cercarie frigjøring fra strandsnegler med økt temperatur.

Betydning av kjønn og fiskestørrelse:

Abundansen til de alminneligste parasittene ble sammenlignet for hanner og hunner. Det var lignende abundanser, kun en marginal forskjell i *H. aduncum* i mage tarm ble funnet. Disse parasittene kan være relativt nylige infeksjoner fra kysten; abundansen til de andre parasittartene som kan ha blitt mottatt fra samme byttedyr som *H. aduncum* (e.g. *D. varicus*) tyder ikke på at dette representerer reelle kjønnsforskjeller. Kjønnsforskjeller i parasittabundans oppstår helst når kjønnene har forskjellig morfologi, oppholdssted eller vandringer. Kjønnene hos pukkellaks er relativt like frem til kjønnsmodning, så det synes lite trolig at påviselige kjønnsforskjeller oppstår i beiteområdene

Det ble ikke sett korrelasjoner mellom fiskevekt (eller fiskelengde) og parasittabundans for hverken hanner eller hunner. Dette er uvanlig, da vekst reflekterer mengden byttedyr spist, og disse kan være bærere av parasitter (Polyanskii 1961).

En mulig forklaring er at infeksjoner med de mest abundante parasittene skjedde den første tiden etter utvandring i sjø, hvis det meste av den senere veksten skjedde i områder med lavt smittepress med disse parasittene. En annen mekanisme som kan ha betydning er tap av noen parasitter som følge av at fisken slutter å spise og mage-tarmtrakten tilbakedannes.

4.5 Sammenligning med atlantisk laks og tidligere studier av pukkellaks

Atlantisk laks

Atlantisk laks infiseres med *Desmoozon lepeoptherii*, *Ichthyobodo salmonis* og *Parvicapsula pseudobranchicola* i sjø i norske farvann. Disse mikroparasittene ble påvist molekylært i de studerte pukkellaksene, men det er ukjent hvilke stadier av de sporedannende parasittene som representerer dette signalet og om pukkellaks er en god vert. *Spironucleus* spp. infeksjoner synes ikke å ha blitt undersøkt i atlantisk laks i sjø, bortsett fra ved *S. salmonicida* epizootiene i Finnmark på 90-tallet.

Atlantisk laks tatt i sjø er bærer av langt flere ferskvannsparasitter enn pukkellaks. Dette har trolig sammenheng med at lakseparr lever flere år i elvene og kan akkumulere infeksjoner med enkelte langlivede arter. I denne studien ble det lett systematisk etter myxosporidiesporer i galle og hjerne, uten at disse ble funnet. Norsk tilbakevandrende laks vil ofte kunne være infisert med myxosporidie *Myxidium truttae* i leveren, og *Myxobolus* sp. i medulla oblongata (Auerbach 1912, Bristow & Berland 1996, Garseth et al. 2009, 2010, Oma et al. 2013, Skotheim et al. 2011, 2012). Disse er ferskvannsararter, og er enten uvanlige i pukkellaks siden juvenilene har kort ferskvannsoffhold eller så er arten resistent.

Det korte ferskvannsoffholdet er trolig også årsak til at pukkellaks sjelden har øyeikter.

De største kontrastene synes å være fravær av magetrematoden *Hemiurus levinseni* i pukkellaksen fra Hordaland. Denne ble rapportert fra laks av Bristow & Berland (1991), og representerer infeksjoner som trolig er nordlige (nord for Lofoten i Norge, og arktiske områder). Det var også mye høyere abundans med *D. varicus* og særlig *L. gibbosus* i pukkellaksen, sammenlignet med tilbakevandrende laksen tatt ved Sotra (Bristow & Berland 1991). *Scolex pleuronectis* er alminnelig i pukkellaksen fra Hordaland, men ble ikke funnet i laksen fra Sotra. Derimot hadde atlantisk laks høyere abundanser av nematodene *Anisakis simplex* og *Hysterothylacium aduncum*.

Tabell 15. Oversikt over prevalens og abundanse hos pukkellaks i Hordaland og atlantisk laks fra relevante områder

Lokalitet	Hordaland		Varzuga, Kolahalvøya		Tanafjorden, Finnmark		Sotra, Hordaland	
	2017		1996		1995		1988	
Studieår								
Ref.			(Muladal 2001)		(Bristow 1996)		(Bristow & Berland 1991)	
Fiskeart	Pukkellaks, n=80		Atlantisk laks (sommer)		Atlantisk laks n=21		Atlantisk laks, n=62	
	P	Ab	P	Ab	P	Ab	P	Ab
	%	Snitt*	%	Snitt*	%	Snitt*	%	Snitt*
Parasittart								
<i>Myxobolus</i> sp.	0	-	-	-	19	-	-	-
<i>Discocotyle sagittata</i>	0	-	0	-	5	-	0	-
<i>Gyrodactyloides bychowskii</i>	-	-	-	-	62	-	-	-
<i>Cryptocotyle lingua</i>	63	130,8	0	-	0	-	-	-
<i>Podocotyle reflexa</i>	0	-	0	-	0	-	0	-
<i>Ichthyocotylurus erraticus</i>	0	-	0	-	0	-	-	-
<i>Apatemon gracilis</i>	1	0,01	0	-	0	-	-	-
<i>Diplostomum</i> spp.	0	-	0	-	19	4,1	-	-
<i>Derogenes varicus</i>	89	32,2	96	9,3	52	39	24	1,6
<i>Hemiurus luehei</i>	3	0,03	0	-	0	-	6	1,5
<i>Hemiurus levinseni</i>	0	-	21	<0,1	29	9,1	8	0,6
<i>Hemiurus communis</i>	4	1,1	0	-	0	-	0	-
<i>Branchyphallus crenatus</i>	1	0,03	96	14,6	19	4,1	0	-
<i>Lecithaster gibbosus</i>	70	20,7	50	5,2	38	3	0	-
<i>Crepidostomum farionis</i>	0	-	0	-	19	1,2	0	-
<i>Crepidostomum metoecus</i>	0	-	0	-	10	0,2	0	-
<i>Scolex pleuronectis</i>	59	3,9	33	0,8	24	4,6	0	-
<i>Eubothrium</i> sp. cf. <i>crassum</i> **	34	3,2	100	14,3	38	0,8	36	2,9
<i>Diphyllobothrium</i> sp.	15	0,2	0	-	0	-	0	-
<i>Scolex bothriosimplex</i>	6	0,1	0	-	0	-	0	-
<i>Proteocephalus</i> sp.	0	-	0	-	5	0,1	0	-
<i>Cestoda</i> l. gen sp.	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Hysterothylacium aduncum</i>	83	6,2	88	9,3	95	38,3	>66	56,7
<i>Anisakis simplex</i>	25	0,8	96	5,2	38	0,8	65***	4,7
<i>Pseudoterranova decipiensis</i>	0	-	-	-	0	-	-	-
<i>Echinorhynchus gadi</i>	0	-	8	<0,1	14	0,4	0	-
<i>Lepeophtheirus salmonis</i>	3	0,03	0	-	90	6,2	94	6,9
<i>Caligus elongatus</i>	0	-	0	-	5	0,1	16	0,2
<i>Salmincola salmoneus</i>	0	0,6	0	-	0	-	<1	-
<i>Ergasilus sieboldi</i>	0	-	0	-	-	-	-	-
Total parasittarter	16		9		19		8	

*Snitt abundanse utregnet fra snittintensitet og prevalens verdier gitt i disse studiene., ** noen ganger kalt *Eubothrium crassum*, andre ganger *Eubothrium* sp., *** Prevalensen oppgitt for tarm (3,2%), mage (4,8) og viscera (&4,5) separat i Bristow & Berland (1991), her gis høyeste observerte verdi.

Pukkellaks

Kjerneartene blant mage-tarm parasittene hos pukkellaks fra Hordaland var også de dominerende i Russiske elver (Kola og Kvitsjøen). De største avvikene er i abundansen av magetrematoden *Brachyphallus crenatus*, uvanlig i Hordaland, og *Diphyllobothrium* sp. larvene i magesekkveggen som Grozdilova (1974) og Ieshko et al. (2016) fant prevalente og abundante. I Kvitsjøen forekommer trematoden *Podocotyle atomon* og krasseren *Echinorhynchus gadi* i tarmen påpukkellaks (Barskaya et al. 2005), disse har larver i marine amfipoder og må være knyttet til den første sjøvannsfasen (estuarieoppholdet) til de unge pukkellaksene. Disse ble ikke sett i pukkellaksene fra Hordaland, men begge artene er svært alminnelige i estuarier rundt Bergen og vil trolig utgjøre en del av pukkellaksens parasittfauna på Vestlandet om arten etablerer seg permanent.

Eubothrium sp. cf. *crassum* prevalensen og abundansen i Hordaland og mange av de Russiske undersøkelsene er lignende. Derimot undersøkte Mo & Poppe (2018) 34 pukkellaks fra Glomma uten å finne en eneste *Eubothrium* sp., hvilket er en signifikant prevalens forskjell fra Hordaland ($P < 0,001$). Likedan fant de ikke *Anisakis simplex* larver, som forekom i hver fjerde pukkellaks i Hordaland, eller *H. aduncum* i mage-tarm. De mente at grunnen kunne være at fordøyelsessystemet var tilbakedannet, eller at pukkellaksen hadde beitet på byttedyr som ikke fungerte som mellomvert for disse parasittene. Dette funnet er interessant, hvis tilfelle kan det bety at forskjellige deler av landet har oppvandring av pukkellaks med ulikt opphav. Muligens bunner det heller i at det ble brukt forskjellige undersøkelsesmetoder.

Tabell 16. Oversikt over tidligere pukkellaksstudier med prevalens og abundanse

Lokalitet	Hordaland		Murmansk		Flere		Keret		Keret	
	2017 (80)		1961 (25)		1964-65 (65)		1993(15)		2003 (15)	
Referanse	Denne studien		Ninburg (1963)		Groznilova (1974)		Ieshko et al. (2016)		Barskaya et al. (2005)	
Parasittart	P	Ab	P	Ab ^a	P	Ab ^a	P	Ab	P	Ab
	%		%		%		%		%	
<i>Microsporidia</i> gen. sp.	-	-	0		47		0			
<i>Gyrodactyloides bychowskii</i>	-				12	0,8				
<i>Discocotyle sagittata</i>	0		0		3	<0,1	0		0	
<i>Cryptocotyle lingua</i>	63	130,8	0		0		0		0	-
<i>Podocotyle reflexa</i>	-	-	20	0,4	26	22,5	26,6	0,4	13	0,1
<i>Ichthyocotylurus erraticus</i>	-	-	4 ^b	1,2 ^b	0		0		20	0,3
<i>Apatemon gracilis</i>	1	0,01	0		0		0		-	-
<i>Diplostomum</i> spp.	0	-	4,0	<0,1	12	0,9	0		33	1
<i>Digenea</i> gen. Sp.			88	74,6			0			
<i>Derogenes varicus</i>	89	32,2	68	17	74	39,4	73,3	3,3	66	7,3
<i>Hemiurus luehei</i>	3	0,03	0		0		0		-	-
<i>Hemiurus levinseni</i>	0	-	0		0		26,6	0,4	-	-
<i>Hemiurus communis</i>	4	1,1	0		0		0		-	-
<i>Brachyphallus crenatus</i>	1	0,03	52	7,6	71	24,7	86,6	8,1	46	3,9
<i>Lecithaster gibbosus</i>	70	20,7	67	141,2	82	42,9	93,3	87,6	46	3
<i>Scolex pleuronectis</i>	59	3,9	>80	>32,9	93	552,8	93,3	79	67	12,7
<i>Eubothrium</i> sp. cf. <i>crassum</i>	34	3,2	24	2,4	28	1,3	80	8	26	0,7
<i>Diphyllobothrium</i> sp.	15	0,2	20 ^c	0,3	68	22,8	46,6	1,10	-	-
<i>Scolex bothriosimplex</i>	6	0,1	0		0		0	0	-	-
<i>Cestoda</i> l. gen sp.	-	-			0		0		87	5,7
<i>Hysterothylacium aduncum</i>	83	6,2	>84	21,1	43	1,1	87	6	40	1,3
<i>Anisakis simplex</i>	25	0,8	0		99	11,2	40	1	26	0,8
<i>Pseudoterranova decipiensis</i>	0	-	0		0		7	1	26	0,3
<i>Echinorhynchus gadi</i>	0	-	0		9	0,3	7	0	0	-
<i>Lepeophtheirus salmonis</i>	3	0,03	+	+	2,9 ^d				-	-
<i>Salmincola salmoneus</i>	3	0,6	92	20,2	22	1,7	0			--
<i>Ergasilus sieboldi</i>	-	-	0				0		7	0,1
<i>Unionidae</i> glochidier			0		9	0,1	0			
Total parasittarter (27)	16		13^e		17		12		13	

^a, Gjennomsnittlig abundanse utregnet fra prevalens og gjennomsnittlig intensitetsdata. ^b, reported as *Tetracotyle* sp. ^c, Som «plerocercoid B», en betegnelse brukt på *Diphyllobothrium* spp. larver fra magevegg på ferskvannfisk. ^d, rapporterte caligid larver, antatt her å representere lakselus. ^e, Ninburg fant også ciliaten *Trichodina* sp.. Denne lar seg ikke påvise i frossen fisk, og er derfor ikke med i sammenligningen. ^f, som regel rapportert som *Eubothrium crassum*.

4.7 Parasitter som biologiske indikatorer

Hva indikerer parasittene?

I de Russiske undersøkelsene ble det funnet flere typer ferskvannsparasitter, som fisken må ha blitt infisert med som unge. Blant disse er *Diplostotum* spp. i øynene (Grozdilova 1974, Barskaya et al. 2005), *Ichthyocotylurus erraticus* rundt hjertet (Ninburg 1963, Barskaya et al. 2005), *Dibothriocephalus* sp. plerocercoider (Ninburg 1963) og haptormakken *Discocotyle sagiatta* på gjellene (Barskaya et al. 2005). Siden disse undersøkelsene ofte involverte få fisk, og sannsynligheten for at slike infeksjoner øker med oppholdstiden til yngelen i elva og oppholdstiden øker med elvestørrelsen, kan mangelen på slike parasitter trolig ha noe med at de «norske» pukkellaksene kommer fra mindre elver (rask utvandring). Alle disse parasittene forekommer i laksefisk i norske elver (Sterud 1999).

Cryptocotyle lingua og de påviste mikroparasittene kan ha infisert pukkellaksene ved vandringen mot elvene, trolig inne i fjordene. *C. lingua* cercariene frigjøres fra snegleverten (sommer-høst), i økende mengder ettersom temperaturen stiger. Det er derfor mindre sannsynlig at pukkellaksyngelen, som starter sjøvannstilværelsen i estuarier fra vår til tidlig sommer, eksponeres *C. lingua* infeksjon. Dette indikerer også at fiskene har beveget seg nær land, der disse kortlivede cercariene forekommer.

Mage-tarmparasitt infrasamfunnene hos pukkellaksen fra Hordaland ligner både de hos artsfrender fra de russiske elvene og de hos returnerende atlantisk laks. En vestentlig forskjell er mangelen på trematoden *Brachyphallus crenatus*, som er mye mer abundant hos disse laksefiskene fra nordlige populasjoner.

Det synes som om smittepresset med denne arten via byttedyr er størst i Kvitsjøen, men er også høyt helt ved land i allefall noen steder rundt Barentshavbassenget. Fraværet kan derfor tolkes som at pukkellaksen i Hordaland har opphav i områder hvor trematoden er uvanlig, trolig Troms og sørover. Derimot synes et opphav fra sør i Nordland og sørover lite trolig, på grunn av at trematoden *Hemiurus communis* er uvanlig. At mange av de langlivede endoparasittene som akkumuleres fra byttedyr ikke viser økende abundans med fiskestørrelsen er svært uvanlig (Polyanskii 1955). Dette kan tyde på at det meste av den senere veksten har skjedd i området hvor byttedyrene ikke er kilde til disse parasittene. Det må bety beiting i åpent hav (Toloen & Karlsbakk 2003), hvilket passer godt med artens næringsbiologi i Stillehavet (Davis 2003).

Men for en parasittart er denne tolkningen problematisk, nemlig for *Anisakis simplex*. Denne forekommer i krill i norskehavet, og sild og andre fisk som beiter der får økende abundans (Monstad 1990, Tolonen & Karlsbakk 2003). Muligens ligger forklaringen i at det dominante byttedyret i sen vekstfase ikke er vert for nematoden f. eks blekksprut (e.g *Gonatus fabricii*)

Forekomst av copepoden *Salmincola salmoneus*, tidligere regnet som spesifikk for atlantisk laks, tyder på at verten har opphav i større lakseførende elv. Denne parasitten synes å kreve en stor laksepopulasjon for kunne opprettholde livssyklusen, som involverer smitte av vinterstøinger og kan være avhengig av forekomst av stor andregangsgytende laks (Kusterle et al.2012)

5 Konklusjon

Pukkellaks fra Etne og Guddal og fra Ekso ble undersøkt for parasitter. 16 arter ble påvist. I tillegg ble det gjort molekylær testing på fisk fra Etne for 5 virus, 3 som er alminnelige i oppdrettslaks i fjordene i Hordaland (PRV, PMCV, SAV), 2 mindre vanlige (IPNV, ISAV) og ett eksotisk for Norge (IHNV). Disse ble ikke påvist. Det ble også gjort testing for noen viktige gjelleagens, assosiert med gjellesykdom hos oppdrettslaks i Hordaland. Både infeksjoner med mikrosporidien *Desmozoon lepeophtherii* og flagellatslekten *Ichthyobodo* spp. var alminnelige (trolig *I. salmonis*). Disse påvisningene regnes ikke som signifikante, på grunn av at de er svært alminnelige i oppdrettsfisk i området. Det ble testet for forekomst av tarmflagellater (*Spiroucleus* spp.) inklusivt den laksepatogene *S. salmonicida*. Disse flagellatene ble ikke påvist.

Det ble ikke påvist parasitter og infeksjoner som jeg mener utgjør en fare for oppdrett av laks.

Infeksjoner med den zoonotiske nematoden *Anisakis simplex* ble påvist i 25% av fisken. Nematoden er tidligere påvist i muskulaturen på pukkellaks i nordvest-Russland, så spising av rå pukkellaks medfører en fare for zoonose (anisakidose)

Pukkellaksen som gikk opp i de tre elvene hadde sannsynligvis lik parasittfauna, mindre forskjeller knyttes til lokal infeksjon i fjordene og endringer i parasitnivåene fra tidlig til sent ankommende fisk.

Parasittfaunaen til pukkellaks og atlantisk laks fra Nord-Norge og Russland viste stort overlapp. En publisert studie av lakseparasitter fra Hordaland derimot tyder på viktige kvalitative forskjeller der. Denne forskjellen er trolig ikke reell (E.K. upubliserte observasjoner).

Fremtidig arbeid:

Det bør gjøres rettede studier for å avklare omfanget av *A. simplex* infeksjoner i muskulaturen. Ytterligere genetiske studier av pukkellaksens parasitter kan gi viktig informasjon om opphav og vandringer

Forekomsten av parasitter som ikke lett kan påvises på frossen fisk bør undersøkes på ferskt materiale. Det bør gjøres smitteforsøk på pukkellaks med flere viktige laksevirus for å avklare mottageligheten og potensiale som bærer og smittespreder.

Litteraturliste

- Andersen, K. (1977). A marine Diphyllbothrium plerocercoid (Cestoda, Pseudophyllidea) from blue whiting (*Micromestius poutasson*). *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 52(3), 289-296.
- Arneberg, P., & Jelmert, A. (2017). Status for miljøet i Barentshavet og ytre påvirkning - rapport fra overvåkningsgruppen. *Fisken og Havet, 1b-2017*.
- Auberbach, M. (1912). Studien über die Myxosporidien der norwegischen seefische und ihre Verbreitung. *Zoologische Jahrbucher, Abt.f. Syst.*, 34, 1-50
- Barskaya YY, Ieshko EP, Novokhatskaya OV (2005) Formation of parasite fauna of pink salmon *Oncorhynchus gorbusha* (Walbaum, 1792) under acclimatization. In: The study, sustainable use and conservation of natural resources of the White Sea Proceedings of the IXth International Conference, October , 11-14, 2004 Petrozavodsk, Karelia, Russia Petrozavodsk
- Bakay YI (2011) Ecological and Parasitological Characteristics of Redfish *Sebastes mentella* (Scorpaeniformes: Sebastidae) from the Norwegian Sea and Adjacent Waters. *Journal of Ichthyology /Vopr Ikhtiol* 51:97-104
- Bell, A. S., Sommerville, C., & Gibson, D. I. (2002). Multivariate analyses of morphometrical features from *Apatemon gracilis* (Rudolphi, 1819) Szidat, 1928 and *A. annuligerum* (v. Nordmann, 1832)(Digenea: Strigeidae) metacercariae. *Systematic parasitology*, 51(2),121-133.
- Berland, B. (1961). Nematodes from some Norwegian marine fishes. *Sarsia*, 2(1), 1-50.
- Berland, B. (1988). Parasites in salmonid aquaculture in Scandinavia. XY congress Soc.Ital. di Parassitologia, Foggia, Italia 1-5. June 1988, 5pp.
- Berland B, Bristow GA (1990) Om bendelmark i laksefisk. *Bulletinen* 1990:14-20
- Berland, B. (1991). *Hysterothylacium aduncum* (nematoda) in fish. ICES Identification leaflets for diseases and parasites of fish and shellfish. Leaflet No. 44
- Berland, B., Bristow, G. (1995). Barents sea project. Salmonide parasites. Zoologisk institutt, UIB
- Berland, B. (2006). Musings on nematode parasites.
- Berntsen, H. H., Sandlund, O. T., Ugedal, O., Thorstad, E. B., Fiske, P., Urdal, K., . . . Florø-Larsen, B. (2018). Pukkellaks i Norge, 2017.
- Bjerknes, V. 1977b. Pukkellaks i Norge. Skal vi satse på å få den mere utbredt? *Jakt - Fiske - Friluftsliv* Nr. 1-2 1977.
- Bonar, S. A., Pauley, G. B., & Thomas, G. L. (1989). *Species Profiles: Life Histories and Environmental Requirements of Coastal Fishes and Invertebrates (Pacific Northwest) Pink Salmon*. Retrieved from
- Bootland, L. M., & Leong, J. (2011). Infectious haematopoietic necrosis virus. *Fish diseases and disorders*, 3, 66-109.
- Brevik, Ø., Nylund, A., Karlsbakk, E., & Hansen, H. (2017). *Parvicapsula pseudobranchicola*; Økt kunnskap og redusere tap. Sluttrapport FHF#900896
- Bristow, G., & Berland, B. (1991). A report on some metazoan parasites of wild marine salmon (*Salmo salar* L.) from the west coast of Norway with comments on their interactions with farmed salmon. *Aquaculture*, 98(1-3), 311-318.
- Bristow, G. A., Alvik, T., & Bohne, H. (1996). Some parasites of marine salmonids from Tanafjorden, Finnmark, Norway. *BULLETIN-SCANDINAVIAN SOCIETY FOR PARASITOLOGY*, 6, 25-32.

- Bristow, G. A., & Berland, B. (1991). The effect of long term, low level *Eubothrium* sp.(Cestoda: Pseudophyllidea) infection on growth in farmed salmon (*Salmo salar* L.). *Aquaculture*, 98(4), 325-330.
- Bristow, G. A., Alvik, T., & Bohne, H. (1996). Some parasites of marine salmonids from Tanafjorden, Finnmark, Norway. *BULLETIN-SCANDINAVIAN SOCIETY FOR PARASITOLOGY*, 6, 25-32.
- Brickle, P., Olson, P.D., Littlewood, D., Bishop, A. & Arkhipkin, A.I. (2001) Parasites of *Loligo gahi* from waters off the Falkland Islands, with a phylogenetically based identification of their cestode larvae. *Canadian Journal of Zoology*, 79, 2289-2296.
- Brun, E., & Lillehaug, A. (2010). Risikoprofil for sykdommer i norsk fiskeoppdrett. *Rapport. Veterinærinstituttet*.
- Bruno, D. W., Noguera, P. A., & Poppe, T. T. (2013). *A colour atlas of salmonid diseases* (Vol. 91): Springer Science & Business Media.
- Busch, M. W., Kuhn, T., Münster, J., & Klimpel, S. (2012). Marine crustaceans as potential hosts and vectors for metazoan parasites. In *Arthropods as vectors of emerging diseases* (pp. 329-360): Springer.
- Bush, AO., Lafferty, KD., Jeffery, ML & Shostaki, AW. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. p.575-583
- Bykhovskaya-Palvovskaya IE, Kulakova AP (1987) Class trematodes- Trematoda Rudolphi, 1808. pp. 77-198 In: Bauer ON (ed) Key for determination of freshwater fish parasites in the fauna of USSR Vol III Multicellular parasites (Second part). Akademia Nauk SSSR. Izdateljstvo Nauka, Leningrad
- Connors, B., Juarez-Colunga, E., & Dill, L. (2008). Effects of varying salinities on *Lepeophtheirus salmonis* survival on juvenile pink and chum salmon. *Journal of Fish Biology*, 72(7), 1825-1830.
- Davis, N. D., Fukuwaka, M. A., Armstrong, J. L., & Myers, K. W. (2005). Salmon food habits studies in the Bering Sea, 1960 to present. *N. Pac. Anadr. Fish Comm. Tech. Rep*, 6, 24-28.
- Dogiel, V. A., & Markov, G. S. (1937). Age variations in parasitofauna of Novaya Zemlaya arctic char (*Salvelinus alpinus*). *Tr. Soc. Nat. Leningr*, 64, 434-455.
- Ekso - Ei levande lakse elv. <http://www.ekso.no/driftsplan.htm?DID-1001>. Hentet 04.02.2019
- Friend, G. (1942). XV.—The Life-history and Ecology of the Salmon Gill-Maggot *Salmincola salmonea* (L.)(Copepod Crustacean). *Earth and Environmental Science Transactions of The Royal Society of Edinburgh*, 60(2), 503-541.
- Galaktionov, K. V., & Bustnes, J. O. (1999). Distribution patterns of marine bird digenean larvae in periwinkles along the southern coast of the Barents Sea. *Diseases of aquatic organisms*, 37(3), 221-230.
- Gibson, D. I. (1996). *Guide to the Parasites of Fishes of Canada: Trematoda*: NRC Research Press.
- Gibson, D. I., & Bray, R. A. (1986). *Hemiuridae (Digenea) of fishes from the north-east Atlantic*: British Museum (Natural History).
- Gjelland, K. Ø., Sandlund, N. O. T. (2012) Pukkellaks *Onchorhynchus gorbuscha*. *Artsdatabankens faktaark. nr 283*.
- Grefsrud ES, Glover K, Grøsvik BE, Husa, V, Karlsen Ø, Kristiansen T, Kvamme BO, Mortensen S, Samuelsen OB, Stien LH, Svåsand T (red.) 2018. Risikorapport norsk fiskeoppdrett 2018. Fisken og havet, særnr. 1-2018.
- Groenewold S, Berghahn R, Zander CD (1996) Parasite communities of four fish species in the Wadden Sea and the role of fish discarded by the shrimp fisheries in parasite transmission. *Helgoländer Meeresunters* 50:69-85

- Grozdilova, T. A. (1974). Parasitic fauna of the humpback salmon (*Oncorhynchus gorboscha* Walb.) in the White Sea. *Parazitologiya*, 8(4), 293-298.
- Gunnarsson, G., Karlsbakk, E., Blindheim, S., Plarre, H., Imsland, A., Handeland, S., . . . Nylund, A. (2017). Temporal changes in infections with some pathogens associated with gill disease in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L). *Aquaculture*, 468, 126-134.
- Hamre, L. A., Eichner, C., Caipang, C. M. A., Dalvin, S. T., Bron, J. E., Nilsen, F., . . . Skern-Mauritzen, R. (2013). The salmon louse *Lepeophtheirus salmonis* (Copepoda: Caligidae) life cycle has only two chalimus stages. *PLoS one*, 8(9), e73539.
- Hauge, M. (2012) " Testar ny fangstteknologi for rømt laks" Havforskningsinstituttet
- Heard, W. R. (1991). Life history of pink salmon. *Pacific salmon life histories*, 119-230.
- Hemmingsen, W., & Mackenzie, K. (2013). Latitudinal variations in the occurrence of some cod parasites along the west coast of Norway. *Marine Biology Research*, 9(4), 431-436.
- Hjeltnes B, Bang Jensen B, Bornø G, Haukaas A, Walde C S (red), Fiskehelse rapporten 2018, utgitt av Veterinærinstituttet 2019
- Hoberg, E.P. (1987) Recognition of larvae of the Tetrabothriidae (Eucestoda): implications for the origin of tapeworms in marine homeotherms. *Can. J. Zool.*, **65**, 997-1000.
- Holst, J., Nilsen, F., Hodneland, K., & Nylund, A. (1993). Observations of the biology and parasites of postsmolt Atlantic salmon, *Salmo salar*, from the Norwegian Sea. *Journal of Fish Biology*, 42(6), 962-966.
- Hordvik, I., Lindstrøm, C. D. V., Voie, A.-M., Jacob, A. L. J., & Endresen, C. (1997). Structure and organization of the immunoglobulin M heavy chain genes in Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Molecular immunology*, 34(8-9), 631-639.
- Horst, K., Baumann, Florian., Ostermeyer, U., Kuhn, T & Klimpel, S. (2011) *Anisakis simplex* (s.s) larvae in wild Alaska salmon: no indication of post mortem migration from viscera into flesh. *Diseases of aquatic organisms*. Vol.94:201-209
- Hutton, R.F. (1961) A plerocercoid (Cestoda: Tetraphyllidea) from the oar-fish, *Regalecus glesne* (Ascanius), with notes on the biology of the oar-fish. *Bull. Mar. Sci. Gulf and Caribbean*, 11, 309-317.
- Ieshko EP, Shulman BS, Barskaya Yu, Novokhatskaya OV. Parasite fauna of pink salmon in the Keret River, White Sea. I: Niemelä E, Johansen N, Zubchenko AV, Dempson JB, Veselov A. Ieshko EP et al. Pink salmon in the Barents region. With special attention to the status in the transboundary rivers Tana and Neiden, rivers in North West Russia and in East Canada. *Vadsø 2016: 126-7*. (Fylkesmannen i Finnmark. Miljøvern avdelinga. Rapport nr. 3)
- Ingebrigtsen, O. (1975). Erfaringer med pukkellaks (*Oncorhynchus corbuscha*) under klekking og i settefiskstadiet.
- Isaksen, T. E., Karlsbakk, E., Repstad, O., & Nylund, A. (2012). Molecular tools for the detection and identification of *Ichthyobodo* spp. (Kinetoplastida), important fish parasites. *Parasitology international*, 61(4), 675-683.
- Jensen, K., & Bullard, S. A. (2010). Characterization of a diversity of tetraphyllidean and rhinebothriidean cestode larval types, with comments on host associations and life-cycles. *International Journal for Parasitology*, 40(8), 889-910.
- Jones, S., Prosperi-Porta, G., & Dawe, S. (2006). A new parvicapsulid (Myxosporea) species in adult pink salmon, *Oncorhynchus gorboscha*, from the Quinsam River, British Columbia, Canada. *Journal of Parasitology*, 92(6), 1313-1319.
- Jones, S. R., & Beamish, R. J. (2011). *Lepeophtheirus salmonis* on salmonids in the northeast Pacific Ocean. *Salmon lice: an integrated approach to understanding parasite abundance and distribution*, 307-329.

- Jones, S. R., Fast, M. D., & Johnson, S. C. (2008). Influence of reduced feed ration on *Lepeophtheirus salmonis* infestation and inflammatory gene expression in juvenile pink salmon. *Journal of aquatic animal health*, 20(2), 103-109.
- Jørgensen, A., Torp, K., Bjørland, M. A., & Poppe, T. T. (2011). Wild arctic char *Salvelinus alpinus* and trout *Salmo trutta*: hosts and reservoir of the salmonid pathogen *Spironucleus salmonicida* (Diplomonadida; Hexamitidae). *Diseases of aquatic organisms*, 97(1), 57-63.
- Kabata, Z. (1992). *Copepods parasitic on fishes*: Published for the Linnean Society of London and the Estuarine and Coastal
- Kabata, Z., & Cousens, B. (1972). The structure of the attachment organ of Lernaepodidae (Crustacea: Copepoda). *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 29(7), 1015-1023.
- Kabata, Z. (1979). Parasitic Copepoda of British fishes, The Ray Society, London.
- Karasev AB (1983) Parasitological investigations on 0-group cod in the Barents Sea in the autumn and winter of 1979/1980. *Annales Biologiques* 37:126-127
- Karasev, AB. & Bakay, Y.I.(2014). Parasites of commercial fishes. In: Investigations by PINRO in the Spitsbergen archipelago area, pp. 275-286. PINRO press, Murmansk.
- Karlsbakk E, Balbuena JA, Hodneland K, Kvenseth A-M, Mullins J, Tolonen A, Torgersen T, Nylund A (2000) "Parasittindusert dødelighet hos sild". Resultater 1999. IFM Rapport 2000:35
- Karlsbakk, E., Otterlei, E., Hoie, H., & Nylund, A. (2001). Parasites of cultured cod (*Gadus morhua*) postlarvae fed natural zooplankton. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 21(2), 63-70.
- Karlsbakk, E., Sæther, P. A., Hostlund, C., Fjellsoy, K. R., & Nylund, A. (2002). *Parvicapsula pseudobranchicola* n. sp.(Myxozoa), a myxosporidian infecting the pseudobranch of cultured Atlantic salmon (*Salmo salar*) in Norway. *BULLETIN-EUROPEAN ASSOCIATION OF FISH PATHOLOGISTS*, 22(6), 381-387.
- Karlsbakk, E., Gammelsæter, M., Dønnum, BO., Sægrov, H., Fleming IA., Jonsson, N., Hindar, K. (2007) Lack of establishment of rainbow trout in Norway: a role for parasites. POSTER symp Essex.
- Kennedy, C. (1978). Studies on the biology of *Eubothrium salvelini* and *E. crassum* in resident and migratory *Salvelinus alpinus* and *Salmo trutta* and in *S. salar* in North Norway and the islands of Spitsbergen and Jan Mayen. *Journal of Fish Biology*, 12(2), 147-162.
- Kuchta, R., Scholz, T., Brabec, J., & Narduzzi-Wicht, B. (2015). Chapter 17. *Diphyllobothrium*, *Diplogonoporus* and *Spirometra*. *Biology of foodborne parasites. Section III important foodborne helminths*.
- Kitamura, Y. & Machida, M. (1973). *Cryptocotyle lingua* (Creplin) from the red fox, *Vulpes vulpes schrencki* Kishida. *Res Bull Meguro Parasit Mus*, 7, p.15-16.
- Knudsen R, Rikardsen AH, Dempson JB, Bjorn PA, Finstad B, Holm M, Amundsen PA (2005) Trophically transmitted parasites in wild Atlantic salmon post-smolts from Norwegian fjords. *Journal of Fish Biology* 66:758-772
- Kuchta, R., Scholz, T., Brabec, J., & Narduzzi-Wicht, B. (2015). *Diphyllobothrium*, *Diplogonoporus* and *Spirometra*. *Biology of Foodborne Parasites. Section III Important Foodborne Parasites*.
- Kuchta, R., Serrano-Martínez, M. E., & Scholz, T. (2015). Pacific broad tapeworm *Adenocephalus pacificus* as a causative agent of globally reemerging diphyllobothriosis. *Emerging infectious diseases*, 21(10), 1697.
- Kuris, A.M., Jaramillo, A.G., McLaughlin, J.P., Weinstein, S.B., Garcia-Vedrenne, A.E., Poinar, G.O., Pickering, M., Steinauer, M.L., Espinoza, M., Ashford, J.E. & Dunn, G.L.P. (2015) Monsters of the Sea Serpent: Parasites of an Oarfish, *Regalecus russellii*. *Journal of Parasitology*, 101, 41-44.

- Kusterle, S., Kristoffersen, R., & Rikardsen, A. (2012). Population dynamics of *Salmincola salmoneus* on Atlantic salmon in a northern Norwegian river. *Diseases of aquatic organisms*, 100(1), 59-70.
- Kvamme, BO., Madhun, A., Powell, M., Sandlund, N., Patel, SJ, Karlsbakk, E. (2018) Patogener Kap. 4 Risikorapport norsk fiskeoppdrett. Fisken og Havet. Sær nr 1-2018.
- Kjøie, M. (1979). On the morphology and life-history of *Derogenes varicus* (Müller, 1784) Looss, 1901 (Trematoda, Hemiuridae). *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 59(1), 67-78.
- Kjøie, M. (1983). Digenetic trematodes from *Limanda limanda* (L.)(Osteichthyes, Pleuronectidae) from Danish and adjacent waters, with special reference to their life-histories. *Ophelia*, 22(2), 201-228.
- Kjøie, M. (1984). Digenetic trematodes from *Gadus morhua* L.(Osteichthyes, Gadidae) from Danish and adjacent waters, with special reference to their life-histories. *Ophelia*, 23(2), 195-222.
- Kjøie, M. (1989). On the morphology and life history of *Lecithaster gibbosus* (Rudolphi, 1802) Lühe, 1901 (Digenea, Hemiuroidea). *Parasitology Research*, 75(5), 361-367.
- Kjøie, M. (1992). Life cycle and structure of the fish digenean *Brachyphallus crenatus* (Hemiuridae). *The Journal of parasitology*, 338-343.
- Kjøie, M. (1993). Aspects of the life cycle and morphology of *Hysterothylacium aduncum* (Rudolphi, 1802)(Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Canadian Journal of Zoology*, 71(7), 1289-1296.
- Kjøie, M., Berland, B & Burt, M. (1995) Development to third stage larvae occurs in the egg of *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae) Can. J. Fish Aquat. Sci. Vol 52 (Suppl.1=: 134-139
- Kjøie, M. (2000). Metazoan parasites of teleost fishes from Atlantic waters off the Faroe Islands. *Ophelia*, 52(1), 25-44.
- Kjøie, M., Berland, B., & Burt, M. D. (1995). Development to third-stage larvae occurs in the eggs of *Anisakis simplex* and *Pseudoterranova decipiens* (Nematoda, Ascaridoidea, Anisakidae). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52(S1), 134-139.
- Lafferty, K., Shostak, A., Bush, A., & Lotz, J. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited.
- Levsen, A., Maage, A., & Roiha, I. S. (2015). Nasjonal undersøkelse av forekomst av *Anisakis* i norsk oppdrettslaks.
- Malakhova R.P. (1972). The parasites fauna of Atlantic salmon, pink salmon, sea trout and white Sea drainage basin // in: salmonids (Salmonidae) og Karelia. Petrozavodsk, No. 1. p. 21-26 (in Russian).
- Marcogliese, D. J. (1995). The role of zooplankton in the transmission of helminth parasites to fish. *Reviews in fish Biology and fisheries*, 5(3), 336-371.
- Markussen, T., Agustí, C., Karlsbakk, E., Nylund, A., Brevik, Ø., & Hansen, H. (2015). *Detection of the myxosporean parasite Parvicapsula pseudobranchicola in Atlantic salmon (Salmo salar L.) using in situ hybridization (ISH)* (Vol. 8).
- Meskal FH (1967) Seasonal fluctuation in the population of two common trematode species from the stomach of the cod. *Sarsia* 26:13-20
- Mo T.A, & Poppe, T. (2018) Pukkellaks invaderte norske elver i 2017. Norsk Veterinærtidsskrift 4. 130 s.243-5
- Mo, T. A., Thorstad, E. B., Sandlund, O. T., Berntsen, H. H., Fiske, P., & Uglem, I. (2018). The pink salmon invasion: a Norwegian perspective. *Journal of fish biology*, 93(1), 5-7.
- Monstad T (1990) Some aspects of mortality, condition factors and liver state with *Anisakis*-infection in blue whiting in the north-east Atlantic. In *Biology and Fisheries of the Norwegian Spring Spawning Herring and Blue Whiting in the Northeast Atlantic*

- (Monstad, T ed) Proc fourth Soviet-Norw Symp Bergen 12-16 June, 1989 Sect I Early Life History Inst Mar Res Bergen, Norway:319-339
- Muldal, R. (2001). Marine parasitter som indikasjon på diett hos sommer- og høstlaks (*Salmo salar* L.) fra elva Varzuga, Kolahalvøya.
- Mæstad, K. (2009) Fikk pukkellaks i Matre. Havforskningsinstituttet. Hentet 9/5-2018
- Nagasawa K. (1990) The life cycle of *Anisakis simplex* : A Review. In: Ishikura H., Kikuchi K. (eds) Intestinal Anisakiasis in Japan. Springer, Tokyo.
- Niemelä, E., Johansen, N., Zubchenko, A., Dempson, J., Veselov, A., Ieshko, E., . . . Länsmän, M. (2016). Pink salmon in the Barents region with special attention to the status in the transboundary rivers Tana and Neiden, rivers in North West Russia and East Canada. *Fylkesmannen i Finnmark, Miljøvern avdelingen, Rapport*, 3-2016.
- Niewiadomska, K. & Kozicja, J. 1970. Remarks on the occurrence and biology of *Cotylurus erraticus* (Rudolphi, 1809) (Strigeidae) from the Mazurian Lakes. *Acta parasit, pol.* **18**: 487-496.
- Nilsen, R. (2006) Parasitter som biologiske markører på interaktiv segregering mellom stasjonær sympatrisk ørret og røye. UIT.
- Ninburg, E. M. 1963.— “The parasite fauna of Murman pink salmon and its peculiarities”. (English translation. L. Margolis). *Fish. Res. Bd. Can. Trans. Ser.* No. 703.
- Norsk Institutt for Naturforvaltning (NINA) (2017) Registrerer utbredelsen av pukkellaks i Norge.
- Nylund, A., Hansen, H., Brevik, Ø. J., Hustoft, H., Markussen, T., Plarre, H., & Karlsbakk, E. (2018). Infection dynamics and tissue tropism of *Parvicapsula pseudobranchicola* (Myxozoa: Myxosporidia) in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Parasites & vectors*, *11*(1), 17.
- Nylund, A., Karlsbakk, E., Sæther, P., Koren, C., Larsen, T., Nielsen, B., . . . Lervik, K. (2005). *Parvicapsula pseudobranchicola* (Myxosporidia) in farmed Atlantic salmon *Salmo salar*: tissue distribution, diagnosis and phylogeny. *Diseases of aquatic organisms*, *63*(2-3), 197-204.
- Nylund, S., Nylund, A., Watanabe, K., Arnesen, C. E., & Karlsbakk, E. (2010). *Paranucleospora theridion* n. gen., n. sp. (Microsporidia, Enterocytozoonidae) with a life cycle in the salmon louse (*Lepeophtheirus salmonis*, Copepoda) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, *57*(2), 95-114.
- Odhner, T. (1905). Die Trematoden des arktischen Gebietes. *Fauna Artica*, *4*, 289-372.
- Olson, P. D., Littlewood, D. T. J., Bray, R. A., & Mariaux, J. (2001). Interrelationships and evolution of the tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *19*(3), 443-467.
- Omsetnings- og sykdomsforskriften for akvatiske dyr. Forskrift om omsetning av akvakulturdyr og produkter av akvakulturdyr, forebygging og bekjempelse av smittsomme sykdommer hos akvatiske dyr. FOR 2008 06 17 819
- Palsson, J. & Beverley-Burton, M. (1984) Helminth parasites of capelin, *Mallotus villosus*, (Pisces, Osmeridae) of the North Atlantic. *Proc. Helm. Soc. Wash.*, **51**, 248-254.
- Perdiguero-Alonso, D., Montero, F. E., Raga, J. A., & Kostadinova, A. (2008). Composition and structure of the parasite faunas of cod, *Gadus morhua* L. (Teleostei: Gadidae), in the North East Atlantic. *Parasites & vectors*, *1*(1), 23.
- Pethon, P. (1985). Aschehougs store fiskebok: alle norske fiskeri farger. *H. Aschehoug & Co. (W. Nygaard) A/S Norway*, 1-447.
- Pippy, J. H. (1980). The value of parasites as biological tags in Atlantic salmon at West Greenland. *Rapports et Proces-Verbaux des Reunions-Conseil International pour l'Exploration de la Mer*, *176*, 76-81.

- Polyansky Yu.I.(1961).Ecology of parasites of marine fishes, p.48-83. In VA Dogiel, GK Petruschenko, YI, Polyansky (eds). Parasitology og fishes. Oliver & Boyd, Edinburg.
- Polyanskii Yu.I. & Kulemina IV (1963) On the parasite fauna of young cod in the Barents Sea. Vestnik Leningradskogo Universiteta, Seria Biologii 15:12-21
- Polyanskii, Y.I. (1955) Parasites of the fish of the Barents Sea. *Izdatelstvo Akademia Nauk SSSR, Moskva*, **19**, 158 pp.
- Poppe, T.T., Mo, T.A. & Iversen, L. (1992). Disseminated hexamitosis in sea-caged Atlantic salamon, *Salmo salar*. *Dis. Aquat. Org.*, **14**, 91-97
- Randhawa, H. S., & Brickle, P. (2011). Larval parasite gene sequence data reveal cryptic trophic links in life cycles of porbeagle shark tapeworms. *Marine Ecology Progress Series*, **431**, 215-222.
- Rahimian, H. (2007) Parasites of fingerling herring *Clupea harengus* L.: ecology and fine morphology. *Journal of Helminthology*, **81**, 199-217.
- Rasmussen, B. (1961). Stillehavslaks på norskekysten.
- Reimer, L.W. (1970) Digene Trematoden und Cestoden der Ostseefische als natürliche Fischmarken. *Parasitolog. SchrReihe*, **20**, 1-144.
- Rokicki, J., Rolbiecki,L. & Scheffs, A. (2012). Parasites of polar cod *Boregadus saida* (Lepechin, 1774) from the Billedfjorden region (Spitsbergen)
- Saksvik, M., Nylund, A., Nilsen, F., & Hodneland, K. (2001). Experimental infection of Atlantic salmon (*Salmo salar*) with marine *Eubothrium* sp.(Cestoda: Pseudophyllidea): observations on the life cycle, aspects of development and growth of the parasite. *Folia parasitologica*, **48**(2), 118-126.
- Sandlund, O. T., Berntsen, H. H., Fiske, P., Kuusela, J., Muladal, R., Niemelä, E., ... & Veselov, A. E. (2018). Pink salmon in Norway: the reluctant invader. *Biological Invasions*, **21**(4), 1033-1054.
- Sandeman, I., & Pippy, J. (1967). Parasites of freshwater fishes (Salmonidae and Coregonidae) of insular Newfoundland. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, **24**(9), 1911-1943.
- Sekhar S., C. & Threlfall, W. (1970) Helminth parasites of the cunner, *Tautogolabrus adspersus* (Walbaum) in Newfoundland. *J. Helminthol.*, **44**, 169-188.
- Scholz, T., & Kuchta, R. (2017). A digest of fish tapeworms. *Vie et Milieu*, **67**(2), 43-58.
- Scott, A. Bonar, Gilbert B, Pauley & Thomas, G.L (1989). Species profiles: Life histories and environmental requirements of coastal fishes and invertebrates (Pacific Northwest), Pink salmon. Biological report 82(11.88)
- Shults, L. (1988). *Helminth parasites of ribbon seals, Phoca fasciata, in the Bering Sea and their intermediate hosts*. Paper presented at the Proc Helminthol Soc Wash.
- Shul`man, S.S & Shul`man-Albova, R.E. (1953). Parasites of Fishes of the White Sea. Izdatelstvo Akademia Nauk SSSR, Moskova, 198 pp.
- Sindermann, C. J., & Farrin, A. E. (1962). Ecological studies of *Cryptocotyle lingua* (Trematoda: Heterophyidae) whose larvae cause" pigment spots" of marine fish. *Ecology*, **43**(1), 69-75.
- Skaala, Ø., Knutar, S., Tjelle, BI., Holmedal, T-E., Barlaup, B., Urdal, K & Merz, J. (2014) Amerikansk laksefeller; Eit nyttig forvaltningsverktøy.
- Skaala, Ø, Knutar, S., Glover, K. (2016) " Rømst og vill fisk i Etneelva; resultat frå den heildekkande fiskefella 2016. Havforskningsinstituttet, Bergen.
- Skjåvik H. 2008. Undersøkelse av pukkellaks (*Oncorhynchus gorboscha*) i Finnmark for forekomst av virus. Oslo 2008. Fordypningsoppgave - Norges veterinærhøgskole
- Smith, J., & Wootten, R. (1984). Anisakis larvae (herringworm)(nematoda) in fish. Parasitose des poissons par les larves du nématode Anisakis. *Fiches d'identification des maladies et parasites des poissons, crustaces et mollusques*, **8**, 2-4.

- Smith, J. W., & Wootten, R. (1978). Anisakis and anisakiasis. In *Advances in parasitology* (Vol. 16, pp. 93-163): Elsevier.
- Soldánová M. et al. Molecular analyses reveal high species diversity of trematodes 1 in a sub-Arctic lake
- Sterud E (1999) Parasitter hos norske ferskvannsfisk. Norsk Zoologisk Forening Rapport 7:22 s
- Telford, M. J., Lockyer, A. E., Cartwright–Finch, C., & Littlewood, D. T. J. (2003). Combined large and small subunit ribosomal RNA phylogenies support a basal position of the acoelomorph flatworms. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 270(1519), 1077-1083.
- Thoen, E., Vrålstad, T., Rolén, E., Kristensen, R., Evensen, Ø., & Skaar, I. (2015). Saprolegnia species in Norwegian salmon hatcheries: field survey identifies *S. diclina* sub-clade IIIB as the dominating taxon. *Diseases of aquatic organisms*, 114(3), 189-198.
- Tolonen, A., & Karlsbakk, E. (2003). Parasites of herring (*Clupea harengus* L.) larvae from a local Norwegian fjord stock. *Sarsia: North Atlantic Marine Science*, 88(2), 154-157.
- Torrissen, O., Jones, S., Asche, F., Guttormsen, A., Skilbrei, O. T., Nilsen, F., . . . Jackson, D. (2013). Salmon lice—impact on wild salmonids and salmon aquaculture. *Journal of fish diseases*, 36(3), 171-194.
- Waeschenbach, A., Brabec, J., Scholz, T., Littlewood, D. T. J., & Kuchta, R. (2017). The catholic taste of broad tapeworms—multiple routes to human infection. *International Journal for Parasitology*, 47(13), 831-843.
- Wagener, G.R. (1854) Die Entwicklung der Cestoden, nach eigenen Untersuchungen. *Verhandlungen der Kaiserlichen Leopoldinisch-Carolinischen Akademie der Naturforscher*, **24 Suppl.**, 1-91.
- Williams HH (1968) The taxonomy, ecology and host-specificity of some Phyllobothriidae (Cestoda: Tetrathyllidea), a critical revision of *Phyllobothrium* Beneden, 1849 and comments on some allied genera. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London* 253:231-307
- Williams, H., & Jones, A.(1994). Parasitic Worms of Fish. Fisheries Centre, University of British Columbia, Vancouver. In: Springer. London.
- Williams, H., MacKenzie, K., & McCarthy, A. (1992). Parasites as biological indicators of the population biology, migrations, diet, and phylogenetics of fish. *Reviews in fish Biology and fisheries*, 2(2), 144-176.
- Wojciechowska, A. (1993) The tetrathyllidean and tetrabothriid cercoids from Antarctic bony fishes. III. Infection of *Notothenia neglecta* and *N. rossii* in Admiralty Bay. *Acta Parasitol.*, **38**, 166-169.